

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 017**

51 Int. Cl.:
C12N 15/29 (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)
A01H 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **03779082 .1**
- 96 Fecha de presentación: **18.09.2003**
- 97 Número de publicación de la solicitud: **1546336**
- 97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.06.2005**

54 Título: **Polinucleótidos y polipéptidos en plantas**

30 Prioridad:
18.09.2002 US 411837 P
17.12.2002 US 434166 P
24.04.2003 US 465809 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.05.2012

73 Titular/es:
MENDEL BIOTECHNOLOGY, INC.
3935 POINT EDEN WAY
HAYWARD, CA 94545, US

72 Inventor/es:
JIANG, Cai-Zhong;
HEARD, Jacqueline, E.;
RATCLIFFE, Oliver;
CREELMAN, Robert, A.;
ADAM, Luc, J.;
REUBER, T., Lynne;
RIECHMANN, Jose, Luis;
HAAKE, Volker;
DUBELL, Arnold, N.;
KEDDIE, James, S. y
SHERMAN, Bradley, K.

74 Agente/Representante:
Ponti Sales, Adelaida

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

ES 2 380 017 T3

DESCRIPCIÓN

Polinucleótidos y polipéptidos en plantas

5 CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se refiere al campo de la biología vegetal, y a composiciones y procesos para modificar el fenotipo de una planta.

10 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] Los rasgos de una planta, tales como sus características bioquímicas, de desarrollo o fenotípicos, se pueden controlar a través de un conjunto de procesos celulares. Una manera importante para manipular ese control es a través de factores de transcripción – proteínas que influyen en la expresión den un gen o grupos de genes concretos. Las plantas transformadas y transgénicas comprenden células que presentan niveles alterados de por lo menos un factor de transcripción seleccionado y pueden poseer rasgos ventajosos o deseables. Las estrategias para manipular rasgos mediante la alteración del contenido de factores de transcripción de células vegetales pueden dar lugar por tanto a plantas y cultivos con propiedades comercialmente valiosas nuevas y/o mejoradas.

[0003] Los factores de transcripción pueden modular la expresión génica, incrementando o disminuyendo (induciendo o reprimiendo) la velocidad de transcripción. Esta modulación da lugar a niveles diferenciales de la expresión génica en varias fases de desarrollo, en diferentes tejidos y tipos de células, y en respuesta a diferentes estímulos exógenos (por ejemplo, medioambientales) y endógenos a través del ciclo vital del organismo.

[0004] Debido a que los factores de transcripción son elementos controladores clave de rutas biológicas, la alteración de los niveles de expresión de uno o más factores de transcripción puede cambiar las rutas biológicas completas en un organismo. Por ejemplo, la manipulación de los niveles de factores de transcripción seleccionados puede dar lugar a una expresión incrementada de proteínas económicamente útiles o biomoléculas en plantas o la mejora en otras características agriculturalmente relevantes. En cambio, la expresión bloqueada o reducida de un factor de transcripción puede reducir la biosíntesis de compuestos no deseados o la eliminación de un rasgo no deseable. Por lo tanto, la manipulación de los niveles de factores de transcripción en una planta ofrece un tremendo potencial en biotecnología agrícola para modificar los rasgos de una planta.

[0005] EP 1 033 405 A describe una secuencia que tiene aproximadamente una identidad del 53,6% con la SEQ ID NO:328 de la presente descripción. La base de datos EMBL de no. de acceso AP000604 es un ADN genómico de *Arabidopsis thaliana*, cromosoma 3, secuencia que corresponde con la SEQ ID NO:327 de la presente descripción.

[0006] Se han identificado polinucleótidos que codifican factores de transcripción, desarrollado numerosas plantas transgénicas utilizando estos polinucleótidos, y han analizado las plantas por una variedad de rasgos importantes. Al hacer esto, se han identificado secuencias de polinucleótidos y polipéptidos para producir plantas y cultivos comercialmente valiosos, así como procesos para fabricarlos y utilizarlos. A continuación, se describen otros aspectos y realizaciones de la invención y pueden derivar de las enseñanzas de esta descripción de forma global.

DESCRIPCIÓN RESUMIDA DE LA INVENCION

[0007] La presente invención proporciona una planta transgénica que sobreexpresa un polinucleótido recombinante, en la que dicha planta transgénica tiene una producción mejorada en comparación con una planta no transgénica o planta de tipo salvaje, en la que el polinucleótido recombinante codifica un polipéptido que tiene por lo menos un 95% de identidad en la secuencia de aminoácidos sobre la longitud completa de la SEQ ID NO:328, proporcionando dicho polipéptido una producción mejorada en comparación con una planta no transgénica que no sobreexpresa el polipéptido.

[0008] En un aspecto, el polipéptido comprende un dominio conservado que tiene por lo menos un 80% de identidad en la secuencia con el dominio conservado de los residuos 5-50 del polipéptido de SEQ ID NO:328.

[0009] En un aspecto, dicho polipéptido comprende SEQ ID NO:328.

[0010] En una realización, en la planta transgénica de la invención, el polinucleótido recombinante comprende un promotor constitutivo, inducible o específico de tejido unido operativamente a dicha secuencia de polinucleótido.

[0011] La presente invención proporciona además una célula vegetal huésped que comprende un cassette de expresión que sobreexpresa un polinucleótido recombinante que codifica un polipéptido, en el que dicho polipéptido es tal como se define anteriormente.

[0012] En otro aspecto, la planta transgénica de la invención comprende hipocótilos más largos y peciolos alargados en comparación con una planta no transgénica o planta de tipo salvaje.

5 **[0013]** La planta transgénica de la invención se puede seleccionar del grupo que consiste en: soja, patata, algodón, colza oleaginosa, canola, girasol, alfalfa, trébol, plátano, mora, arándano, fresa, frambuesa, cantalupo, zanahoria, coliflor, café, pepino, berenjena, uvas, melón dulce, lechuga, mango, melón, cebolla, papaya, guisantes, pimientos, piña, calabaza, espinaca, calabacín, tabaco, tomate, tomatillo, sandía, drutas rosáceas, árboles frutales, crucíferas, cebada; trigo, maíz, maíz dulce, arroz, centeno; caña de azúcar, césped; mijo; sorgo; grosella; aguacate; cítricos, naranjas, limones, pomelo, mandarinas, alcachofa, cerezas; nuez, cacahuete; endibia; puerro; arrurruz, remolacha, mandioca, nabo, rábano, batata, boniato; judías, pino, álamo, eucalipto y menta.

10 **[0014]** La presente invención proporciona además una parte de planta de la planta transgénica de la invención definida anteriormente que comprende un cassette de expresión que comprende el polinucleótido recombinante, en la que la parte de planta se selecciona entre fruto, hoja, raíz, tejido vegetal, incluyendo tejido vascular o fundamental, o células vegetales. La invención proporciona además una semilla de la planta transgénica de la invención definida anteriormente, en la que dicha semilla comprende un cassette de expresión que comprende el polinucleótido recombinante.

15 **[0015]** La presente invención proporciona un proceso para producir una planta transgénica de las reivindicaciones anteriores, comprendiendo el proceso las etapas: (a) producir un cassette de expresión que comprende un polinucleótido recombinante que codifica un polipéptido que tiene por lo menos un 95% de identidad en la secuencia de aminoácidos sobre la longitud completa de la SEQ ID NO:328; (b) introducir el cassette de expresión en la planta; y (c) identificar y seleccionar una planta con producción mejorada en comparación con una planta no transgénica o una planta de tipo salvaje.

20 **[0016]** La presente invención también proporciona un proceso para producir una planta transgénica que tiene el rasgo alterado de producción mejorada en comparación con una planta no transgénica o una planta de tipo salvaje, comprendiendo el proceso las etapas: (a) proporcionar un vector de expresión que comprende: (i) un polinucleótido recombinante que el polinucleótido recombinante codifica un polipéptido que tiene por lo menos un 95% de identidad en la secuencia de aminoácidos sobre la longitud completa de SEQ ID NO:328; y (ii) por lo menos un elemento regulador que flanquea la secuencia de polinucleótido, siendo dicho por lo menos un elemento regulador efectivo en el control de la expresión de dicho polinucleótido recombinante en una planta diana; (b) introducir el vector de expresión en una célula vegetal, produciendo así una célula vegetal transgénica; (c) crecer la célula vegetal transgénica en una planta transgénica y permitir que la planta transgénica sobreexpresa un polipéptido codificado por el polinucleótido recombinante, teniendo dicho polipéptido la propiedad de producción mejorada en una planta en comparación con una planta no transgénica que no sobreexpresa el polipéptido; y (d) identificar por lo menos una planta transgénica con dicha producción mejorada mediante la comparación de dicha planta transgénica con por lo menos una planta no transgénica que no sobreexpresa el polipéptido.

25 **[0017]** La presente invención proporciona además la utilización de un polinucleótido recombinante que el polinucleótido recombinante codifica un polipéptido que tiene por lo menos un 95% de identidad en la secuencia de aminoácidos sobre la longitud completa de SEQ ID NO:328, para producir una planta transgénica que tiene una producción mejorada en comparación con una planta no transgénica que no sobreexpresa el polipéptido. Opcionalmente, el polinucleótido comprende un promotor constitutivo, inducible o específico de tejido unido operativamente a dicha secuencia de polinucleótidos.

30 **Breve descripción del listado de secuencias y figuras**

35 **[0018]** El listado de secuencias proporciona secuencias de polinucleótidos y polipéptidos de ejemplo. Los rasgos asociados con la utilización de las secuencias se incluyen en los ejemplos.

40 La figura 1 muestra una evaluación conservativa de relaciones filogenéticas entre las órdenes de plantas con flores (modificado de Angiosperm Phylogeny Group (1998) *Ann. Missouri Bot. Gard.* 84: 1-49). Las plantas con un solo cotiledón (monocotiledóneas) son un clado monofilético anidado dentro de por lo menos dos linajes principales de dicotiledóneas; las eudicotiledóneas se dividen además en rósidas y astérides. *Arabidopsis* es una eucotiledónea rósida dentro del orden de las brasicáceas; el arroz es un miembro de las monocotiledóneas del orden poales. La figura 1 se ha adaptado de Daly y col. (2001) *Plant Physiol.* 127: 1328-1333.

45 La figura 2 muestra un dendograma filogenético que representa las relaciones de la taxonomía de las plantas superiores, incluyendo clados que contienen el tomate y *Arabidopsis*, adaptado de Ku y col. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 9121-9126; y Chase y col. (1993) *Ann. Missouri Bot. Gard.* 80: 528-580.

50 **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE REALIZACIONES DE EJEMPLO**

55 **[0019]** En un importante aspecto, la presente invención se refiere a la utilización de polinucleótidos y polipéptidos, por ejemplo, para modificar fenotipos de plantas, en particular los asociados con la mejora del estrés por sequía. A lo largo de toda esta descripción, se hace referencia a diferentes fuentes de información. Las fuentes de información incluyen artículos de revistas científicas, documentos de patentes, libros de texto, y direcciones de páginas inactivas

del explorador de la Red, por ejemplo. Se puede contar con y usar los contenidos y las enseñanzas de todas y cada una de las fuentes de información para hacer y usar las realizaciones de la invención.

5 **[0020]** Debe indicarse que, tal como se usa en el presente documento y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares “un”, “una” y “el”, “la” incluyen las referencias plurales salvo que se indique de otra forma claramente en el contexto. Por lo tanto, por ejemplo, una referencia a “una planta” incluye una pluralidad de dichas plantas, y una referencia a “un estrés” es una referencia a uno o más estreses y equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la materia, etc.

10 **[0021]** Las secuencias de polinucleótidos descritas aquí codifican polipéptidos que son miembros de familias de factores de transcripción conocidos, incluyendo familias de factores de transcripción de plantas, tal como se describe en las Tablas 4-9. En general, los factores de transcripción codificados por las presentes secuencias están implicados en la diferenciación y proliferación celular y la regulación del crecimiento. Por consiguiente, un experto en la materia reconocería que mediante la expresión de las presentes secuencias en una planta, se puede cambiar la expresión de genes autólogos o inducen la expresión de genes introducidos. Al afectar la expresión de secuencias autólogas similares en una planta que tiene la actividad biológica de las presentes secuencias, o al introducir las presentes secuencias en una planta, se puede alterar un fenotipo de planta a uno con rasgos mejorados. Las secuencias también se pueden utilizar para transformar una planta e introducir rasgos deseados no hallados en el cultivar o cepa de tipo salvaje. A continuación se pueden seleccionar las plantas para aquellas que producen el grado más deseable de sobreexpresión o subexpresión de genes diana de interés y la mejora de rasgos coincidentes.

25 **[0022]** Las secuencias pueden ser de cualquier especie, particularmente especies de plantas, en una forma natural o de cualquier origen ya sea natural, sintética, semisintética o recombinante. Las secuencias también pueden incluir fragmentos de las presentes secuencias de aminoácidos. Cuando se menciona “secuencia de aminoácidos” para referirse a una secuencia de aminoácidos de una molécula proteica natural, “secuencia de aminoácidos” y términos similares no pretenden limitar la secuencia de aminoácidos a la secuencia de aminoácidos nativa completa asociada con la molécula proteica indicada.

30 **[0023]** Tal como un experto en la materia reconoce, los factores de transcripción se pueden identificar por la presencia de una región o dominio de similitud o identidad estructural con una secuencia consenso específica o la presencia de un sitio de unión a ADN consenso específico o motivo de un sitio de unión a ADN específico (véase, por ejemplo, Riechmann et al. (2000) *Science* 290: 2105-2110). Los factores de transcripción de una planta pueden pertenecer a una de las siguientes familias de factores de transcripción: la familia del factor de transcripción del dominio AP2 (APETALA2) (Riechmann y Meyerowitz (1998) *Biol. Chem.* 379: 633-646); la familia del factor de transcripción MYB (ENBib; Martin y Paz-Ares (1997) *Trends Genet.* 13: 67-73); la familia del factor de transcripción del dominio MADS (Riechmann y Meyerowitz (1997) *Biol. Chem.* 378: 1079-1101); la familia de la proteína WRKY (Ishiguro y Nakamura (1994) *Mol. Gen. Genet.* 244: 563-571); la familia de proteína de repetición ankyrin (Zhang et al. (1992) *Plant Cell* 4: 1575-1588); la familia de proteínas de dedos de zinc (Z) (Klug y Schwabe (1995) *FASEB J.* 9: 597-604); Takatsuji (1998) *Cell. Mol. Life Sci.* 54:582-596); la familia de proteínas homeobox (HB) (Buerklin (1994) en *Guidebook to the Homeobox Genes*, Duboule (ed.) Oxford University Press); las proteínas de unión a elemento CAAT (Forsburg y Guarente (1989) *Genes Dev.* 3: 1166-1178); proteínas de unión a promotor escuamosa (SPB) (Klein et al. (1996) *Mol. Gen. Genet.* 1996 250: 7-16); la familia de proteínas NAM (Souer et al. (1996) *Cell* 85: 159-170); las proteínas IAA/AUX (Abel et al. (1995) *J. Mol. Biol.* 251: 533-549); la familia de proteínas HLH/MYC (Littlewood et al. (1994) *Prot. Profile* 1: 639-709); la familia de proteínas de unión a ADN (DBP) (Tucker et al. (1994) *EMBO J.* 13: 2994-3002); la familia de factores de transcripción bZIP (Foster et al. (1994) *FASEB J.* 8: 192-200); la familia de proteínas de unión a Box P (la BPF-1) (da Costa e Silva et al. (1993) *Plant J.* 4: 125-135); la familia del grupo de movilidad elevada (HMG) (Bustin y Reeves (1996) *Prog. Nucl. Acids Res. Mol. Biol.* 54: 35-100); la familia “espantapájaros” (SCR) (Di Lorenzo et al. (1996) *Cell* 86: 423-433); la familia GF14 (Wu et al. (1997) *Plant Physiol.* 114: 1421-1431); la familia polycomb (PCOMB) (Goodrich et al. (1997) *Nature* 386: 44-51); la familia ramificada teosinte (TEO) (Luo et al. (1996) *Nature* 383: 794-799); la familia ABI3 (Giraudat et al. (1992) *Plant Cell* 4: 1251-1261); la familia de la triple hélice (TH) (Dehesh et al. (1990) *Science* 250: 1397-1399); la familia EIL (Chao et al. (1997) *Cell* 89: 1133-44); la familia AT-HOOK (Reeves y Nissen (1990) *J. Biol. Chem.* 265: 8573-8582); la familia S1FA (Zhou et al. (1995) *Nucleic Acids Res.* 23: 1165-1169); la familia bZIPT2 (Lu y Ferl (1995) *Plant Physiol.* 109: 723); la familia YABBY (Bowman et al. (1999) *Development* 126: 2387-96); la familia PAZ (Bohmert et al. (1998) *EMBO J.* 17: 170-80); una familia de factores de transcripción diversos (MISC), incluyendo la familia DPBF (Kim et al. (1997) *Plant J.* 11: 1237-1251) y la familia SPF1 (Ishiguro y Nakamura (1994) *Mol. Gen. Genet.* 244: 563-571); la familia GARP (Hall et al. (1998) *Plant Cell* 10: 925-936), la familia TUBBY (Boggin et al. (1999) *Science* 286 : 2119-2125), la familia de choque térmico (Wu (1995) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 11: 441-469), la familia ENBP (Christiansen et al. (1996) *Plant Mol. Biol.* 32: 809-821), la familia de ANILLO-zinc (Jensen et al. (1998) *FEBS Letters* 436: 283-287), la familia PDBP (Janik et al. (1989) *Virology* 168: 320-329), la familia PCF (Cubas et al. *Plant J.* (1999) 18: 215-22), la familia SRS (relacionada con SHI) (Fridborg et al. (1999) *Plant Cell* 11: 1019-1032), la familia CPP (similar a polycomb rica en cisteína) (Cvitanič et al. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 8163-8168), la familia ARF (factor de respuesta a auxina) (Ulmasov et al. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 5844-5849), la familia SWI/SNF (Collingwood et al. (1999) *J. Mol. Endocrinol.* 23: 255-275), la familia ACBF (Seguin et al. (1997) *Plant Mol. Biol.* 35: 281-291), la familia PCGL (similar a CG-1) (da Costa e Silva et al. (1994) *Plant Mol. Biol.* 25: 921-924) la familia

ARID (Vazquez et al. (1999) Development 126: 733-742), la familia Jumonji (Balciunas et al. (2000), Trends Biochem. Sci. 25: 274-276), la familia bZIPNIN (Schäuser et al. (1999) Nature 402: 191-195), la familia E2F (Kaelin et al. (1992) Cell 70: 351-364) y la familia similar a GRF (Knaap et al. (2000) Plant Physiol. 122: 695-704). Tal como se indica en cualquier parte de la lista anterior y tal como se conoce en la técnica, los factores de transcripción se han clasificado a veces por la clase, familia y subfamilia según su contenido estructural y motivo del sitio de unión a ADN consenso, por ejemplo. Muchas de las clases y muchas de las familias y subfamilias se indican aquí. La lista proporcionada aquí es simplemente un ejemplo de los tipos de factores de transcripción y el conocimiento disponible con respecto a las secuencias consenso y los motivos de unión a ADN consenso que ayudan a definirlos tal como se conoce por los expertos en la materia. Un factor de transcripción puede incluir, pero sin limitación, cualquier polipéptido que puede activar o reprimir la transcripción de un único gen o grupo de genes. Este grupo de polipéptidos incluye, pero sin limitación, proteínas de unión a ADN, proteínas de unión a proteínas de unión a ADN, proteína quinasas, proteína fosfatasa, proteína metiltransferasa, proteínas de unión a GTP y receptores, y similares.

[0024] Además de los procesos para modificar un fenotipo de una planta mediante la utilización de uno o más polinucleótidos y polipéptidos descritos aquí, los polinucleótidos y polipéptidos presentan una variedad de usos adicionales. Estos usos incluyen su uso en la producción recombinante (es decir, expresión) de proteínas; como reguladores de la expresión génica en plantas, como sondas de diagnóstico para la presencia de ácidos nucleicos complementarios o parcialmente complementarios (incluyendo para la detección de ácidos nucleicos codificantes naturales); como sustratos para reacciones posteriores, por ejemplo, reacciones de mutación, reacciones PCR, o similares; como sustratos para la clonación, por ejemplo, incluyendo reacciones de digestión o unión; y para identificar moduladores exógenos o endógenos de los factores de transcripción.

Definiciones

[0025] "Molécula de ácido nucleico" se refiere a un oligonucleótido, polinucleótido o cualquier fragmento de los mismos. Puede ser ADN o ARN de origen genómico o sintético, de doble cadena o una cadena, y combinado con hidratos de carbono, lípidos, proteínas u otros materiales para llevar a cabo una actividad particular tal como transformación o formación de una composición útil tal como un ácido nucleico peptídico (PNA).

[0026] "Polinucleótido" es una molécula de ácido nucleico que comprende una pluralidad de nucleótidos polimerizados, por ejemplo, por lo menos aproximadamente 15 nucleótidos polimerizados consecutivos, opcionalmente por lo menos aproximadamente 30 nucleótidos consecutivos, por lo menos aproximadamente 50 nucleótidos consecutivos. Un polinucleótido puede ser un ácido nucleico, oligonucleótido, nucleótido o cualquier fragmento de los mismos. En muchos casos, un polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido (o proteína) o un dominio o fragmento del mismo. Además, el polinucleótido puede comprender un promotor, un intrón, una región potenciadora, un sitio de poliadenilación, un sitio de inicio de la traducción, regiones 5' o 3' no traducidas, un gen indicador, un marcador seleccionable, o similares. El polinucleótido puede ser ADN o ARN de una cadena o de doble cadena. El polinucleótido comprende opcionalmente bases modificadas o una cadena principal modificada. El polinucleótido puede ser, por ejemplo, ADN o ARN genómico, un transcrito (tal como un ARNm), un ADNc, un producto de la PCR, un ADN clonado, un ADN o ARN sintético, o similares. El polinucleótido puede estar combinado con hidratos de carbono, lípidos, proteínas u otros materiales para realizar una actividad particular tal como una transformación o formar una composición útil tal como un ácido nucleico-peptídico (PNA). El polinucleótido puede comprender una secuencia en orientación de sentido directo o sentido contrario. "Oligonucleótido" es sustancialmente equivalente a los términos amplímero, cebador, oligómero, elemento, diana y sonda y es preferiblemente monocatenario.

[0027] "Gen" o "secuencia génica" se refiere a la secuencia codificante parcial o completa de un gen, su complemento y sus regiones 5' o 3' no traducidas. Un gen también es una unidad funcional de herencia, y en términos físicos es un segmento o secuencia particular de nucleótidos a lo largo de una molécula de ADN (o ARN, en el caso de virus de ARN) implicada en la producción de una cadena de polipéptido. Esta última se puede someter a un procesamiento posterior tal como corte y empalme, y plegado para obtener una proteína o polipéptido funcional. Un gen se puede aislar parcialmente o puede encontrarse con un genoma del organismo. A modo de ejemplo, un gen de un factor de transcripción codifica un polipéptido de factor de transcripción, que puede ser funcional o requiere procesamiento para funcionar como un iniciador de la transcripción.

[0028] Desde un punto de vista operativo, los genes se pueden definir por el ensayo cis-trans, un ensayo genético que determina si hay dos mutaciones en el mismo gen y esto se puede usar para determinar los límites de la unidad genéticamente activa (Rieger y col. (1976) "Glossary of Genetics and Cytogenetics: Classical and Molecular", 4ª ed., Springer Verlag, Berlín). Un gen en general incluye regiones que preceden ("líderes"; en la dirección 5') y que siguen ("remolques"; dirección 3') a la región codificante. Un gen puede incluir también secuencias no codificantes, intercaladas, denominadas "intrones" localizadas entre segmentos codificantes individuales denominados "exones". La mayoría de los genes tienen una región promotora asociada, una secuencia 5' reguladora del codón de inicio de la transcripción (hay algunos genes que no tienen un promotor identificable). La función de un gen también puede ser regulada por potenciadores, operadores y otros elementos reguladores.

5 [0029] “Un polinucleótido recombinante” es un polinucleótido que no está en su estado natural, por ejemplo, el polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos que no se encuentra en la naturaleza, o el polinucleótido está en un contexto distinto del que se encuentra de forma natural, por ejemplo, separado de secuencias de nucleótidos de las que normalmente está próximo en la naturaleza, o secuencias de nucleótidos adyacentes (o contiguas) con las que normalmente no está próximo. Por ejemplo, la secuencia en cuestión se puede clonar en un vector, o recombinar de otra forma con uno o más ácidos nucleicos adicionales.

10 [0030] Un “polinucleótido aislado” es un polinucleótido, sea natural o recombinante, que está presente fuera de la célula en la que normalmente se encuentra en la naturaleza, sea purificado o no. Opcionalmente, un polinucleótido aislado se somete a uno o más procedimientos de enriquecimiento o purificación, por ejemplo, lisis celular, extracción, centrifugación, precipitación, o similares.

15 [0031] Un “polipéptido” es una secuencia de aminoácidos que comprende una pluralidad de residuos de aminoácidos polimerizados consecutivos, por ejemplo, por lo menos aproximadamente 15 residuos de aminoácidos polimerizados consecutivos, opcionalmente por lo menos aproximadamente 30 residuos de aminoácidos polimerizados consecutivos, por lo menos aproximadamente 50 residuos de aminoácidos polimerizados consecutivos. En muchos casos, un polipéptido comprende una secuencia de residuos de aminoácidos polimerizados que es un factor de transcripción o un dominio o parte o un fragmento del mismo. Además, el polipéptido puede comprender: 1) un dominio de localización; 2) un dominio de activación; 3) un dominio de represión; 4) un dominio de oligomerización; o 5) un dominio de unión a ADN, o similares. El polipéptido comprende opcionalmente residuos de aminoácidos modificados, residuos de aminoácidos naturales que no codifican un codón, o residuos de aminoácidos no naturales.

25 [0032] “Proteína” se refiere a una secuencia de aminoácidos, oligopéptido, péptido, polipéptido o partes de los mismos sean naturales o sintéticos.

30 [0033] “Parte”, como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier parte de una proteína usada para cualquier propósito, pero en especial para el cribado de una biblioteca de moléculas que se unen específicamente a esa parte o para la producción de anticuerpos.

35 [0034] Un “polipéptido recombinante” es un polipéptido producido por la traducción de un polinucleótido recombinante. Un “polipéptido sintético” es un polipéptido creado por polimerización consecutiva de residuos de aminoácidos aislados usando procedimientos conocidos en la técnica. Un “polipéptido aislado”, sea un polipéptido natural o recombinante, está más enriquecido en (o fuera de) una célula que el polipéptido en su estado natural en una célula salvaje, por ejemplo enriquecido en más de aproximadamente 5%, o más de aproximadamente un 20%, o más de aproximadamente un 50%, es decir, alternativamente indicado como: 105%, 110%, 120%, 150% o más enriquecido con respecto al tipo salvaje normalizado a 100%. Dicho enriquecimiento no es el resultado de una respuesta natural de una planta tipo salvaje. Alternativa o adicionalmente, el polipéptido aislado se separa de otros componentes celulares con los que está normalmente asociado, por ejemplo, por cualquiera de los diferentes procedimientos de purificación de proteínas del presente documento.

45 [0035] “Homología” se refiere a la similitud de secuencia entre una secuencia de referencia y por lo menos un fragmento de un inserto de clon secuenciado nuevo o su secuencia de aminoácidos codificada.

[0036] “Complejo de hibridación” se refiere a un complejo entre dos moléculas de ácido nucleico por la formación de enlaces de hidrógeno entre purinas y pirimidinas.

50 [0037] “Identidad” o “similitud” se refieren a la similitud de secuencias entre dos secuencias de polinucleótidos o entre dos secuencias de polipéptidos, siendo la identidad la comparación más rigurosa. Las frases “porcentaje de identidad” y “% de identidad” se refieren al porcentaje de similitud de secuencia encontrado en una comparación de dos o más secuencias de polinucleótidos o dos o más secuencias de polipéptidos. “Similitud de secuencia” se refiere al porcentaje de similitud en la secuencia de pares de bases (determinado por cualquier proceso adecuado) entre dos o más secuencias de polinucleótidos. Dos o más secuencias pueden tener una similitud en cualquier punto de 0-100%, o cualquier valor entero entre estos. La identidad o similitud se puede determinar comparando una posición en cada secuencia que se pueden alinear para los propósitos de comparación. Cuando una posición en la secuencia comparada está ocupada por la misma base de nucleótido o aminoácido, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. El grado de similitud o identidad entre secuencias de polinucleótidos es una función del número de nucleótidos idénticos o emparejamientos en posiciones compartidas por las secuencias de polinucleótidos. El grado de identidad de una secuencia de polipéptido es una función del número de aminoácidos idénticos en las posiciones compartidas por las secuencias de polipéptidos. El grado de homología o similitud de secuencias de polipéptidos es una función del número de aminoácidos en las posiciones compartidas por las secuencias de polipéptidos.

65 [0038] La expresión “patrón consenso de aminoácidos” se refiere a la parte o a la subsecuencia de una secuencia de polipéptido que está sustancialmente conservada entre los factores de transcripción polipeptídicos listados en la Lista de Secuencias.

[0039] “Alineamiento” se refiere a una serie de secuencias de ADN o aminoácidos alineadas para la comparación longitudinalmente de modo que los componentes comunes (es decir bases de nucleótidos o residuos de aminoácidos) se pueden identificar de forma visual y fácil. El número de componentes en común está relacionada con la homología o identidad entre las secuencias. Los alineamientos se pueden usar para identificar dominios conservados y relacionados dentro de estos dominios. Un alineamiento se puede determinar de forma adecuada mediante programas de ordenador conocidos en la técnica, tales como MacVector (1999) (Accelrys, Inc., San Diego, CA).

[0040] Un “dominio conservado” o “región conservada” como se usa en el presente documento, se refiere a una región en secuencias de polinucleótidos o polipéptidos heterólogas en la que hay un grado de identidad de secuencia relativamente alto entre las distintas secuencias.

[0041] Con respecto a los polinucleótidos que codifican los presentes factores de transcripción descritos, una región conservada preferiblemente tiene por lo menos 10 pares de bases (pb) de longitud.

[0042] Un “dominio conservado”, con respecto a los presentes polipéptidos descritos se refiere a un dominio dentro de un familia de los factores de transcripción que presenta un grado de homología de secuencia superior, tal como por lo menos 80% de similitud de secuencia, e incluso más preferiblemente por lo menos 85% o por lo menos aproximadamente 86%, o por lo menos aproximadamente 87%, o por lo menos aproximadamente 88%, o por lo menos aproximadamente 90%, o por lo menos aproximadamente 95%, o por lo menos aproximadamente 98% de identidad de secuencia de los residuos de aminoácidos de un polipéptido de residuos de aminoácidos consecutivos. Un fragmento o dominio puede denominarse fuera de un dominio conservado, fuera de una secuencia consenso o fuera de un sitio de unión al ADN consenso, cuando se sabe que existen o que existe para una clase, familia o su familia de factores de transcripción particulares. En este caso, el fragmento o dominio no incluirá los aminoácidos exactos de una secuencia consenso o sitio de unión al ADN consenso de una clase, familia o subfamilia de factores de transcripción, o los aminoácidos exactos de una secuencia consenso o sitio de unión al ADN consenso de factor de transcripción particular. Además, un fragmento, región o dominio particular de un polipéptido, o un polinucleótido que codifica un polipéptido, puede estar “fuera de un dominio conservado” si todos los aminoácidos del fragmento, región o dominio están fuera de un dominio o dominios conservados definidos para un polipéptido o proteína. Las secuencias que tienen un grado de identidad menor pero actividad biológica comparable se considera que son equivalentes.

[0043] Tal como un experto en la materia reconoce, se pueden identificar dominios conservados como regiones o dominios de identidad a una secuencia consenso específica (véase, por ejemplo, Riechmann et al. (2000) supra). De este modo, utilizando procesos de alineación conocidos en la técnica, se pueden determinar los dominios conservados de los factores de transcripción de plantas para cada uno de los siguientes: la familia del factor de transcripción del dominio AP2 (APETALA2) (Riechmann y Meyerowitz (1998) supra); la familia del factor de transcripción MYB (ENBib; Martin y Paz-Ares (1997) supra); la familia del factor de transcripción del dominio MADS (Riechmann y Meyerowitz (1997) supra; Immink et al. (2003) supra); la familia de la proteína WRKY (Ishiguro y Nakamura (1994) supra); la familia de proteína de repetición ankyrin (Zhang et al. (1992) supra); la familia de proteínas de dedos de zinc (Z) (Klug y Schwabe (1995) supra; Takatsuji (1998) supra); la familia de proteínas homeobox (HB) (Buerklin (1994) supra); las proteínas de unión a elemento CAAT (Forsburg y Guarente (1989) supra); proteínas de unión a promotor escuamosa (SPB) (Klein et al. (1996) supra); la familia de proteínas NAM (Souer et al. (1996) supra); las proteínas IAA/AUX (Abel et al. (1995) supra); la familia de proteínas HLH/MYC (Littlewood et al. (1994) supra); la familia de proteínas de unión a ADN (DBP) (Tucker et al. (1994) supra); la familia de factores de transcripción bZIP (Foster et al. (1994) supra); la familia de proteínas de unión a Box P (la BPF-1) (da Costa e Silva et al. (1993) supra); la familia del grupo de movilidad elevada (HMG) (Bustin y Reeves (1996) supra); la familia “espantapájaros” (SCR) (Di Laurenzio et al. (1996) supra); la familia GF14 (Wu et al. (1997) supra); la familia polycomb (PCOMB) (Goodrich et al. (1997) supra); la familia ramificada teosinte (TEO) (Luo et al. (1996) supra); la familia ABI3 (Giraudat et al. (1992) supra); la familia de la triple hélice (TH) (Dehesh et al. (1990) supra); la familia EIL (Chao et al. (1997) supra); la familia AT-HOOK (Reeves y Nissen (1990) supra); la familia S1FA (Zhou et al. (1995) supra); la familia bZIPT2 (Lu y Ferl (1995) supra); la familia YABBY (Bowman et al. (1999) supra); la familia PAZ (Bohmer et al. (1998) supra); una familia de factores de transcripción diversos (MISC), incluyendo la familia DPBF (Kim et al. (1997) supra) y la familia SPF1 (Ishiguro y Nakamura (1994) supra); la familia GARP (Hall et al. (1998) supra); la familia TUBBY (Boggin et al (1999) supra); la familia de choque térmico (Wu (1995) supra); la familia ENBP (Christiansen et al. (1996) supra); la familia de ANILLO-zinc (Jensen et al. (1998) supra); la familia PDBP (Janik et al. (1989) supra); la familia PCF (Cubas et al. Plant J. (1999) supra); la familia SRS (relacionada con SHI) (Fridborg et al. (1999) supra); la familia CPP (similar a polycomb rica en cisteína) (Cvitanich et al. (2000) supra); la familia ARF (factor de respuesta a auxina) (Ulmasov et al. (1999) supra); la familia SWI/SNF (Collingwood et al. (1999) supra); la familia ACBF (Seguin et al. (1997) supra); la familia PCGL (similar a CG-1) (da Costa e Silva et al. (1994) supra) la familia ARID (Vazquez et al. (1999) supra); la familia Jumonji (Balciunas et al. (2000), supra); la familia bZIPNIN (Schauer et al. (1999) supra); la familia E2F (Kaelin et al. (1992) supra) y la familia similar a GRF (Knaap et al. (2000) supra).

[0044] Los dominios conservados de SEQ ID NO: 328 se indican en la Tabla 5.

[0045] "Complementaria" se refiere a los enlaces de hidrógeno naturales de emparejamiento de bases entre purinas y pirimidinas. Por ejemplo, la secuencia A-C-G-T (5'→3') forma enlaces de hidrógeno con sus complementarias A-C-G-T (5'→3') o A -C-G-U (5'→3'). Dos moléculas de monocatenarias se pueden considerar parcialmente complementarias si forman enlace sólo algunos de los nucleótidos, o "completamente complementarias" si forman enlace todos los nucleótidos. El grado de complementariedad entre cadenas de ácido nucleico afecta a la eficacia y fuerza de las reacciones de hibridación y amplificación. "Totalmente complementarias" se refiere al caso en el que la formación de enlaces se produce entre cada uno de los pares de bases y sus complementarios en una pareja de secuencias, y las dos secuencias tienen el mismo número de nucleótidos.

[0046] Las expresiones "muy riguroso" o "condiciones muy rigurosas" se refiere a condiciones que permiten la hibridación de cadenas de ADN cuyas secuencias son muy complementarias, en las que las mismas condiciones excluyen la hibridación de ADN con emparejamientos erróneos significativos. Las secuencias de polinucleótidos capaces de hibridar en condiciones rigurosas con los polinucleótidos la presente invención pueden ser, por ejemplo, variantes de las secuencias de polinucleótidos descritas, incluyendo variantes alélicas o de corte y empalme, o secuencias que codifican ortólogos o parálogos de los presentes polipéptidos descritos. Los procedimientos de hibridación de ácidos nucleicos se describen en detalle en Kashima y col. (1985) *Nature* 313:402-404, Sambrook y col. (1989) "Molecular Cloning: A Laboratory Manual". 2ª Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. ("Sambrook"), y en Hames y Higgins, "Nucleic Acid Hybridisation: A Practical Approach", IRL Press, Washington, D.C. (1985), cuyas referencias se incorporan en el presente documento por referencia.

[0047] En general, las condiciones rigurosas se determinan por la temperatura, fuerza iónica y concentración de los agentes desnaturizantes (por ejemplo, formamida) usados en una hibridación y el procedimiento de lavado (para una descripción más detallada para establecer y determinar las condiciones rigurosas, véase a continuación). El grado con que hibridan dos ácidos nucleicos en diferentes condiciones rigurosas esta correlacionado con la extensión de su similitud. Por lo tanto, las secuencias de ácidos nucleicos similares de una variedad de fuentes, tal como en el genoma de una planta (como es el caso de parálogos) o de otra planta (como es el caso de ortólogos) que pueden realizar funciones similares, se pueden aislar basándose en su capacidad de hibridar con secuencias de factores de transcripción conocidas. Son posibles numerosas variaciones en las condiciones y medios con los que se puede realizar la hibridación de ácidos nucleicos para aislar secuencias de factores de transcripción que tienen similitud con las secuencias de factores de transcripción conocidas en la técnica, y no están limitados a los que se describen explícitamente en el presente documento. Dicho procedimiento se puede usar para aislar secuencias de polinucleótidos que tienen diferentes grados de similitud con las secuencias de factores de transcripción descritos, tal como por ejemplo factores de transcripción que tienen 60% de identidad, o más preferiblemente más de aproximadamente 70% de identidad, lo más preferiblemente 72% de identidad o identidad mayor con los factores de transcripción descritos.

[0048] El término "equivalogo" describe miembros de un conjunto de proteínas homólogas que son conservadas con respecto a su función desde su último ancestro común. Las proteínas relacionadas se agrupan en familias de equivalogos, y por otra parte en familias de proteínas con otros tipos de homología jerárquicamente definidas. Esta definición se proporciona en el sitio web (www) del Institute for Genomic Research (TIGR), "tigr.org" bajo el título "Terms associated with TIGRFAMs". Institute for Genomic Research (TIGR) página web (www), "tigr.org" bajo el título "Terms associated with TIGRFAMs".

[0049] El término "variante", como se usa en el presente documento, se puede referir a polinucleótidos o polipéptidos que difieren entre sí en la secuencia de los polinucleótidos o polipéptidos descritos en el presente documento, respectivamente, y se exponen más adelante.

[0050] Con respecto a las variantes de polinucleótidos, las diferencias entre los polinucleótidos descritos en el presente documento y las variantes de polinucleótidos están limitadas de modo que las secuencias de nucleótidos de los primeros y de estos últimos son en general muy similares y, en muchas regiones, idénticos. Debido a la degeneración del código genético, la diferencia entre las primeras y estas últimas secuencias de nucleótidos puede ser silenciosa (es decir, los aminoácidos codificados por el polinucleótido son los mismos, y la secuencia de polinucleótidos variante codifica la misma secuencia de aminoácidos que el presente polinucleótido descrito. Las secuencias de nucleótidos variantes pueden codificar secuencias de aminoácidos diferentes, en cuyo caso dichas diferencias de nucleótidos darán como resultado sustituciones, adiciones, eliminaciones, truncados o fusiones de aminoácidos, con respecto a las secuencias de polinucleótidos descritas. Estas variaciones pueden dar como resultado variantes de polinucleótido que codifica polipéptidos que comparten por lo menos una característica funcional. La degeneración del código genético también dicta que muchos polinucleótidos variantes diferentes pueden codificar polipéptidos idénticos y/o sustancialmente similares además de las secuencias ilustradas en la Lista de Secuencias.

[0051] También se describe en este documento una variante de un ácido nucleico de factor de transcripción listado en la Lista de Secuencias, es decir, uno que tiene una secuencia que difiere de una de las secuencias de polinucleótidos de la Lista de Secuencias, o una secuencia complementaria, que codifica un polipéptido

funcionalmente equivalente (es decir, un polipéptido que tiene algún grado de actividad biológica equivalente o similar) pero difiere en la secuencia respecto a la secuencia en la Lista de Secuencias, debido a la degeneración en el código genético. Están incluidos en esta definición los polimorfismos que se pueden detectar fácilmente o no usando una sonda de oligonucleótido particular del polinucleótido que codifica el polipéptido, y la hibridación inadecuada o inesperada con variantes alélicas, con un locus distinto del locus cromosómico normal para la secuencia de polinucleótido que codifica el polipéptido.

[0052] “Variante alélica” o “variante alélica de polinucleótido” se refiere a cualquiera de dos o más formas alternativas de un gen que ocupa el mismo locus cromosómico. La variación alélica surge de forma natural por mutación, y puede dar como resultado el polimorfismo fenotípico en las poblaciones. Las mutaciones de genes pueden ser “silenciosas” o pueden codificar polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos alterada. “Variante alélica” y “variante alélica de polipéptido” también se pueden usar con respecto a los polipéptidos, y en este caso la expresión se refiere a un polipéptido codificado por una variante alélica de un gen.

[0053] “Variante de corte y empalme” o “variante de corte y empalme de polinucleótido”, como se usa en el presente documento, se refiere a formas alternativas de ARN transcrito a partir de un gen. La variación por corte y empalme se produce de forma natural como resultado de sitios alternativos que son cortados y empalmados dentro de una sola molécula de ARN transcrita o entre moléculas de ARN transcritas por separado, y puede dar como resultado diferentes formas de ARNm transcritas del mismo gen. Por lo tanto, las variantes de corte y empalme pueden codificar polipéptidos que tienen diferentes secuencias de aminoácidos que pueden tener o no funciones similares en el organismo. La “variante de corte y empalme” o “variante de corte y empalme de polipéptido” también se puede referir a un polipéptido codificado por una variante de corte y empalme de un ARNm transcrito.

[0054] También como se usa en el presente documento, las “variantes de polinucleótido” también se pueden referir a secuencias de polinucleótidos que codifican parálogos y ortólogos de las presentes secuencias de polipéptidos descritas. Las “variantes de polipéptido” también se pueden referir a secuencias de polipéptidos que son parálogas y ortólogas de las presentes secuencias de polipéptidos descritas.

[0055] Las diferencias entre los polipéptidos descritos aquí y variantes de polipéptidos son limitadas, de manera que las secuencias de los primeros y los últimos son en general muy similares y, en muchas regiones, idénticas. Las secuencias de polipéptidos descritos aquí y variantes de polipéptidos similares pueden diferir en la secuencia de aminoácidos en una o más sustituciones, adiciones, deleciones, fusiones y truncamientos, que pueden estar presentes en cualquier combinación. Estas diferencias pueden producir cambios silenciosos y dar lugar a un factor de transcripción funcionalmente equivalente. De este modo, se entenderá fácilmente por los expertos en la materia, que cualquier variedad de secuencias de polinucleótidos es capaz de codificar los factores de transcripción y polipéptidos homólogos de factores de transcripción. Una variante de secuencia de polipéptido puede tener cambios “conservativos”, en los que un aminoácido sustituido tiene propiedades estructurales o químicas similares. De este modo, se pueden realizar sustituciones deliberadas de aminoácidos en base a la similitud de polaridad, carga, solubilidad, hidrofobicidad, hidrofiliidad, y/o la naturaleza anfipática de los residuos, siempre que se mantenga la actividad funcional o biológica del factor de transcripción. Por ejemplo, aminoácidos cargados negativamente incluyen ácido aspártico y ácido glutámico, aminoácidos cargados positivamente pueden incluir lisina y arginina, y aminoácidos con grupos de cabeza polares no cargados que tienen valores de hidrofiliidad similares pueden incluir leucina, isoleucina y valina; glicina y alanina; asparagina y glutamina; serina y treonina; y fenilalanina y tirosina (para más detalles sobre sustituciones conservativas, véase la tabla 2). Más raramente, una variante puede tener cambios “no conservativos”, por ejemplo, la sustitución de una glicina por un triptófano. Las variaciones menores similares pueden incluir también deleciones o inserciones de aminoácidos, o ambas. Los polipéptidos relacionados pueden comprender, por ejemplo, adiciones y/o deleciones de uno o más sitios de glicosilación de unión a N u O, o una adición y/o una deleción de uno o más residuos de cisteína. Una guía sobre la determinación de qué y cómo muchos residuos de aminoácidos se pueden sustituir, insertar o eliminar sin abolir la actividad funcional o biológica se puede hallar utilizando programas informáticos conocidos en la técnica, por ejemplo, software DNASTAR (véase USPN 5,840,544).

[0056] “Ligando” se refiere a cualquier molécula, agente o compuesto que se unirá específicamente a un sitio complementario en una molécula de ácido nucleico o proteína. Dichos ligandos estabilizan o modulan la actividad de las moléculas de ácido nucleico o proteínas de la invención y pueden estar compuestas por por lo menos uno de los siguientes: sustancias inorgánicas y orgánicas incluyendo ácidos nucleicos, proteínas, hidratos de carbono, grasas y lípidos.

[0057] “Modula” se refiere a un cambio en actividad (biológica, química o inmunológica) o vida útil que resulta de la unión específica entre una molécula y una molécula de ácido nucleico o una proteína.

[0058] El término “planta” incluye las plantas enteras, órganos/estructuras vegetativas que brotan (por ejemplo, hojas, tallos y tubérculos), raíces, flores y órganos/estructuras florales (por ejemplo, brácteas, sépalos, pétalos, estambres, carpelos, anteras y óvulos), semillas (incluyendo embriones, endospermo y recubrimiento de semilla) y fruto (el ovario maduro), tejido de la planta (por ejemplo, tejido vascular, tejido del suelo y similares) y células (por ejemplo, células guarda, células huevo y similares), y descendientes de los mismos. La clase de plantas que se

puede usar en el procedimiento de la invención en general es tan amplio como la clase de plantas superiores e inferiores susceptibles de técnicas de transformación, incluyendo angiospermas (plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas); gimnospermas, helechos, belchos, psilofitos, licofitos, briofitos y algas multicelulares (véase, por ejemplo, en la figura 1, adaptada de Daly y col. (2001) *Plant Physiol.* 127: 1328-1333, Figura 2, adaptada de Ku y col. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 9121-9126; y véase también en Tudge (2000) en "The Variety of Life", Oxford University Press, Nueva York, NY, pág. 547-606).

[0059] Una "planta transgénica" se refiere a una planta que contiene material genético que no se encuentra en una planta tipo salvaje de la misma especie, variedad o variedad cultivada. El material genético puede incluir un transgén, un suceso de mutagénesis por inserción (tal como mutagénesis por inserción de transposón o ADN-T), una secuencia marcadora de activación, una secuencia mutada, un suceso de recombinación homóloga o una secuencia modificada por quimeroplastia. Típicamente, el material genético extraño se ha introducido en la planta mediante manipulación humana, pero se puede usar cualquier procedimiento como reconocerá el experto en la materia.

[0060] Una planta transgénica puede contener un vector o casete de expresión. El casete de expresión típicamente comprende una secuencia que codifica un polipéptido operativamente unida (es decir, bajo el control regulador de) a secuencias reguladoras inducibles o constitutivas adecuadas que permiten la expresión del polipéptido. El casete de expresión se puede introducir en una planta mediante transformación o mediante cultivo después de transformación de una planta parental. Una planta se refiere a una planta entera así como a una parte de la planta, tal como la semilla, fruto, hoja o raíz, tejido de la planta, células de la planta o cualquier otro material de la planta, por ejemplo, un explante de planta, así como descendientes de la misma, y a sistemas in vitro que imitan los componentes o procedimientos bioquímicos o celulares en una célula.

[0061] "Planta de control" se refiere a una planta que sirve como estándar de comparación para analizar los resultados de un tratamiento o alteración genética, o el grado de expresión alterada de un gen o producto génico. Ejemplos de plantas de control incluyen plantas que no han sido tratadas o genéticamente inalteradas (es decir, de tipo salvaje).

[0062] "Tipo salvaje", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una célula, semilla, tejido o planta que no se ha modificado genéticamente para inactivar o sobreexpresar uno o más de los factores de transcripción descritos en la presente invención. Las células, tejidos, o plantas de tipo salvaje se pueden usar como controles para comparar los niveles de expresión y la extensión y naturaleza de la modificación del rasgo con células, tejidos o plantas en las que se ha alterado la expresión de un factor de transcripción o se ha expresado ectópicamente, por ejemplo, se ha inactivado o sobreexpresado.

[0063] "Fragmento", con respecto a un polinucleótido, se refiere a un clon o cualquier parte de una molécula de polinucleótido que retiene una característica funcional usable. Los fragmentos útiles incluyen oligonucleótidos y polinucleótidos que se pueden usar en las tecnologías de hibridación o amplificación o en la regulación de la replicación, transcripción o traducción. Un "fragmento de polinucleótido" se refiere a cualquier subsecuencia de un polinucleótido, típicamente, de por lo menos aproximadamente 9 nucleótidos consecutivos, preferiblemente por lo menos aproximadamente 30 nucleótidos, más preferiblemente por lo menos aproximadamente 50 nucleótidos, de cualquiera de las secuencias proporcionadas en el presente documento. Los fragmentos de polinucleótido de ejemplo son los primeros 60 nucleótidos consecutivos de los polinucleótidos de los factores de transcripción listados en la Lista de Secuencias. Los fragmentos de ejemplo incluyen fragmentos que comprenden una región que codifica un dominio conservado de un factor de transcripción.

[0064] Los fragmentos también pueden incluir subsecuencias de polipéptidos y moléculas de proteínas, o una subsecuencia de un polipéptido. Los fragmentos pueden tener uso en cuanto que pueden tener potencial antigénico. En algunos casos, el fragmento o dominio es una subsecuencia del polipéptido que realiza por lo menos una función biológica del polipéptido intacto sustancialmente de la misma manera, o en una extensión similar, a la que lo hace en el polipéptido intacto. Por ejemplo, un fragmento de polipéptido puede comprender un patrón estructural reconocible o dominio funcional tal como un sitio de unión al ADN o dominio que se une a una región promotora de ADN, un dominio de activación o un dominio para interacciones proteína-proteína, y puede iniciar la transcripción. Los fragmentos pueden variar de tamaño desde tan pocos como 3 residuos de aminoácidos hasta la longitud entera del polipéptido intacto, pero preferiblemente tienen por lo menos aproximadamente 30 residuos de aminoácidos de longitud y más preferiblemente por lo menos aproximadamente 60 residuos de aminoácidos de longitud. Los fragmentos de polipéptidos de ejemplo son los primeros 20 aminoácidos consecutivos de una proteína de mamífero codificada por los primeros veinte aminoácidos consecutivos de los polipéptidos de los factores de transcripción listados en la Lista de Secuencias. Los fragmentos de ejemplo también incluyen fragmentos que comprenden un dominio conservado de un factor de transcripción.

[0066] "Derivado" se refiere a la modificación química de una molécula de ácido nucleico o secuencia de aminoácidos. Las modificaciones químicas pueden incluir la sustitución de hidrógeno o un grupo alquilo, acilo o amino o la glicosilación, pegilación, o cualquier procedimiento similar que retenga o potencie la actividad biológica o la vida útil de la molécula o secuencia.

[0067] Un “rasgo” se refiere a una característica fisiológica, morfológica, bioquímica o física de una planta o un material o célula de planta particular. En algunos casos, esta característica es visible a simple vista, tal como el tamaño de la semilla o planta, o se puede medir por técnicas bioquímicas, tales como detectando el contenido de proteína, almidón o aceite de semillas u hojas, o por observación de un proceso metabólico o fisiológico, por ejemplo, midiendo la captación del dióxido de carbono o por la observación del nivel de expresión de un gen o genes, por ejemplo usando análisis Northern, RT-PCR, ensayos de expresión de genes de micromatrices, o sistemas de expresión de genes indicadores, o por observaciones agrícolas tales como la tolerancia al estrés, la producción o la tolerancia a patógenos. Sin embargo, se puede usar cualquier técnica para medir la cantidad, el nivel comparativo o la diferencia en cualquier compuesto o macromolécula química seleccionada en las plantas transgénicas.

[0068] “ La “modificación de rasgo” se refiere a una diferencia detectable en una característica en una planta que expresa ectópicamente un polinucleótido o polipéptido de la presente invención con respecto a una planta que no lo hace, tal como una planta de tipo salvaje. En algunos casos, la modificación del rasgo se puede evaluar de forma cuantitativa. Por ejemplo, la modificación del rasgo puede conllevar un aumento o disminución de por lo menos aproximadamente 2% en un rasgo (diferencia) observado, por lo menos un 5% de diferencia, por lo menos aproximadamente un 10% de diferencia, por lo menos aproximadamente un 20% de diferencia, por lo menos aproximadamente un 30% de diferencia, por lo menos aproximadamente un 50% de diferencia, por lo menos aproximadamente un 70% de diferencia, o por lo menos aproximadamente un 100% de diferencia, o una diferencia incluso mayor, comparado con una planta de tipo salvaje. Se sabe que puede haber una variación natural en el rasgo modificado. Por lo tanto, la modificación del rasgo observado conlleva un cambio de la distribución y magnitud normales del rasgo de las plantas comparado con la distribución y magnitud observadas en las plantas de tipo salvaje.

[0069] La expresión “perfil del transcrito” se refiere a los niveles de expresión de un conjunto de genes en una célula en un estado particular, en particular por comparación con los niveles de expresión del mismo conjunto de genes en una célula del mismo tipo en un estado de referencia. Por ejemplo, el perfil de transcritos de un factor de transcripción particular en una célula en suspensión son los niveles de expresión de un conjunto de genes en una célula que que sobreexpresa este factor de transcripción comparado con los niveles de expresión del mismo conjunto de genes en una célula en suspensión que tiene los niveles normales de este factor de transcripción. El perfil de transcritos se puede presentar como una lista de aquellos genes cuyo nivel de expresión es significativamente diferente entre los dos tratamientos, y las proporciones de la diferencia. Las diferencias y similitudes entre los niveles de expresión también se pueden evaluar y calcular usando procedimientos estadísticos y de agrupamiento.

[0070] La “expresión ectópica o expresión alterada” en referencia a un polinucleótido indica que el patrón de expresión, por ejemplo, en una planta transgénica o tejido de planta, es diferente del patrón de expresión en una planta tipo salvaje o una planta de referencia de la misma especie. El patrón de expresión también se puede comparar con un patrón de expresión de referencia en una planta tipo salvaje de la misma especie. Por ejemplo, el polinucleótido o polipéptido se expresa en una célula o tipo de tejido distintos de una célula o tipo de tejido en el que la secuencia se expresa en la planta tipo salvaje, o por la expresión en un momento distinto al momento en el que la secuencia se expresa en la planta tipo salvaje, o por una respuesta a diferentes agentes inducibles, tales como hormonas o señales del entorno, o con niveles de expresión diferentes (sean mayores o menores) comparados con los encontrados en una planta tipo salvaje. El término también se refiere a patrones de expresión alterados que se producen disminuyendo los niveles de expresión por debajo del nivel de detección o por eliminación completa de la expresión. El patrón de expresión resultante puede ser transitorio o estable, constitutivo o inducible. Con referencia a un polipéptido, la expresión “expresión ectópica o expresión alterada” se puede referir además a los niveles de actividad alterados que resultan de las interacciones de los polipéptidos con moduladores exógenos o endógenos o de interacciones con factores o como resultado de la modificación química de los polipéptidos.

[0071] La expresión “sobreexpresión”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un nivel de expresión mayor de un gen en una planta, célula de planta o tejido de planta, comparado con la expresión en una planta, célula o tejido tipo salvaje, en cualquier fase de desarrollo o temporal para el gen. La sobreexpresión se produce cuando, por ejemplo, los genes que codifican uno o más factores de transcripción están bajo el control de una señal de expresión fuerte, tal como uno de los promotores descritos en el presente documento (por ejemplo, la región de inicio de la transcripción 35S del virus del mosaico de la coliflor). La sobreexpresión se puede producir en toda la planta o en tejidos específicos de la planta, dependiendo del promotor usado, como se describe más adelante.

[0072] La sobreexpresión puede tener lugar en células de plantas que normalmente carecen de la expresión de polipéptidos opcionalmente equivalentes o idénticos a los presentes factores de transcripción. La sobreexpresión también se puede producir en células de plantas en las que normalmente se produce la expresión endógena de los presentes factores de transcripción o moléculas funcionalmente equivalentes, pero dicha expresión normal es en un nivel inferior. Por lo tanto, la sobreexpresión da como resultado una producción mayor que la normal o “exceso de producción” del factor de transcripción en la planta, célula o tejido.

[0073] El término “cambio de fase” se refiere a la progression de una planta desde un embrión a adulto y, en algunas definiciones, la transición en la que las plantas florales ganan competencia reproductiva. Se cree que el cambio de fases tiene lugar después de un cierto número de divisiones celulares en la parte terminal de un brote de una planta en desarrollo, o cuando la parte terminal del brote alcanza una distancia concreta desde las raíces. De este modo, alterando el ritmo de los cambios de fases se puede influir en el tamaño de la planta que, a su vez, puede afectar a la producción y la biomasa.

[0074] La “tolerancia” resulta de las características específicas heredables de una planta huésped que permiten que un patógeno se desarrolle y se multiplique en el huésped, mientras el huésped, ya sea por la carencia de sitios receptores o por la inactivación o compensación de las secreciones irritantes del patógeno, aún consigue crecer o, en el caso de plantas de cultivos, producir un buena cultivo. Las plantas tolerantes son susceptibles al patógeno, pero no son eliminadas por el mismo, y generalmente muestran poco daño por el patógeno (Agrios (1988) *Plant Pathology*, 3rd ed. Academic Press, N.Y., p. 129).

[0075] “Resistencia”, también referida como “resistencia verdadera”, resulta cuando una planta contiene uno o más genes que hacen que la planta y un patógeno potencial más o menos incompatibles entre sí, ya sea debido a la falta de reconocimiento químico entre el huésped y el patógeno, o porque la planta huésped puede defenderse por sí sola contra el patógeno mediante mecanismos de defensa ya presentes o activados en respuesta a la infección (Agrios (1988)) *Plant Pathology*, 3rd ed. Academic Press, N.Y., p. 125).

[0076] Una “muestra” con respecto a un material que contiene moléculas de ácido nucleico, puede comprender un fluido corporal; un extracto de una célula, cromosoma, orgánulo o membrana aislados de una célula; ADN, ARN o ADNc genómicos en disolución o unidos a un sustrato; una célula; un tejido; una huella tisular; una muestra forense; y similares. En este contexto “sustrato” se refiere a cualquier soporte rígido o semirígido al que se unen moléculas de ácido nucleico o proteínas, que incluyen membranas, filtros, chips, portaobjetos, obleas, fibras, perlas magnéticas o nanomagnéticas, geles, capilares u otros tubos, placas, polímeros y micropartículas, con una variedad de formas de la superficie incluyendo pocillos, zanjias, agujas, canales y poros. Un sustrato también se puede referir a un reaccionante en una reacción química o biológica, o una sustancia que actúa sobre ella (por ejemplo, una enzima).

[0077] “Sustancialmente purificado” se refiere a moléculas de ácido nucleico o proteínas que se extraen de su medio natural y se aíslan o separan, y están por lo menos aproximadamente un 60% libres, preferiblemente aproximadamente un 75% libres, y lo más preferible aproximadamente un 90% libres, de otros componentes con los que pueden estar asociados de forma natural.

Rasgos que se pueden modificar en plantas sobreexpresantes o knock-out

[0078] Entre las modificaciones de los rasgos de interés particular se incluyen aquellas en semilla (tales como embriones o endoesperma), fruto, raíz, flor, hoja, tallo, brote, semillero o similar, incluyendo: mayor tolerancia a las condiciones medioambientales, incluyendo helada, frío, calor, sequía, saturación de agua, radiación y ozono; mejor tolerancia a enfermedades microbianas, fúngicas o virales; mejor tolerancia a infestación de plagas, incluyendo insectos, nematodos, mollicutes, plantas superiores parasitarias o similares; menos sensibilidad a herbicida; mejor tolerancia de metales pesados o mayor capacidad de captación de metales pesados; mejor crecimiento bajo fotocondiciones pobres (por ejemplo, luz baja y/o longitud corta del día) o cambios en los niveles de expresión de genes de interés. Otro fenotipo que se puede modificar se refiere a la producción de metabolitos de la planta, tales como variaciones en la producción de taxol, tocoferol, tocotrienol, esteroides, fitoesteroides, vitaminas, monómeros cerosos, antioxidantes, aminoácidos, ligninas, celulosa, taninos, pernil lípidos (tales como clorofilas y carotenoides), glucosinolatos y terpenoides, producción de proteína o aceite aumentada o alterada en la composición (especialmente en semillas), o azúcar modificado (insoluble o soluble) y/o composición de almidón. Las características físicas de la planta que se pueden modificar incluyen, el desarrollo celular, tal como el número de tricomas), tamaño y número de frutos y semillas, producción de las partes de las plantas, tales como los tallos, hojas, inflorescencia y raíces, la estabilidad de las semillas durante el almacenamiento, las características de la vaina de las semillas (por ejemplo, susceptibilidad a quebrarse), longitud y cantidad del pelo radical, distancias internodales o la calidad del recubrimiento de la semilla. Las características del crecimiento de la planta que se pueden modificar incluyen la velocidad de crecimiento, la velocidad de germinación de las semillas, el vigor de las plantas y semilleros, senescencia de la hoja y la flor, esterilidad masculina, apomixis, tiempo de floración, grietas de las flores, velocidad de captación de nitrógeno, sensibilidad osmótica a concentraciones de azúcar soluble, características de biomasa o transpiración, así como características de la arquitectura de la planta, tales como la dominancia apical, patrones de ramificación, número de órganos, identidad de órganos, forma o tamaño de órgano.

Los factores de transcripción modifican la expresión de genes endógenos

[0079] La expresión de genes que codifican factores de transcripción que modifican la expresión de genes, polinucleótidos y proteínas endógenos, es bien conocida en la materia. Además, las plantas transgénicas que comprenden polinucleótidos aislados que codifican factores de transcripción también pueden modificar la expresión de genes, polinucleótidos y proteínas endógenos. Los ejemplos incluyen Peng y col. (1997) *Genes Development* 11: 3194-3205, y Peng y col. (1999) *Nature*, 400: 256-261). Además, muchos otros han demostrado que un factor de

transcripción de *Arabidopsis* expresado en una especie de planta exógena produce la misma respuesta fenotípica o muy similar. Véase, por ejemplo, en Fu y col. (2001) *Plant Cell* 13: 1791-1802; Nandi y col. (2000) *Curr. Biol* 10: 215-218; Coupland (1995) *Nature* 377:482483; y Weigel y Nilsson (1995) *Nature* 377: 482-500).

5 **[0080]** En otro ejemplo, Mandel y col. (1992) *Cell* 71:133-143, y Suzuki y col. (2001) *Plant J.* 28: 409-418 enseñan que un factor de transcripción expresado en otra especie de planta produce la misma respuesta fenotípica o muy similar a la de la secuencia endógena, como se ha predicho con frecuencia en estudios previos de factores de transcripción de *Arabidopsis*, en *Arabidopsis* (véase Mandel y col. (1992) supra; y Suzuki y col. (2001) supra).

10 **[0081]** Otros ejemplos incluyen Muller y col. (2001) *Plant J.* 28: 169-179; Kim y col. (2001) *Plant J.* 25: 247-259; Kyojuka y Shimamoto (2002) *Plant Cell Physiol.* 43: 130-135; Boss y Thomas (2002) *Nature*, 416: 847-850; He y col. (2000) *Transgenic Res.* 9: 223-227; y Robson y col. (2001) *Plant J.* 28: 619-631.

15 **[0082]** En otro ejemplo más, Gilmour y col. (1998) *Plant J.* 16: 433-442, enseñan un factor de transcripción AP2 de *Arabidopsis*, CBF1, que cuando se expresa en exceso en plantas transgénicas aumenta la tolerancia a las heladas. Jaglo y col. (2001) *Plant Physiol.* 127: 910-917, identificaron además secuencias en *Brassica napus* que codifican genes de tipo CBF y que los transcritos para estos genes se acumulaban rápidamente en respuesta a la temperatura baja. También se encontró que los transcritos que codifican las proteínas CBF se acumulaban rápidamente en respuesta a la temperatura baja en el trigo, así como en el tomate. El alineamiento de las proteínas CBF de
20 *Arabidopsis*, *B. napus*, trigo, centeno y tomate pusieron de manifiesto la presencia de residuos de aminoácidos consecutivos conservados, PKK/RPAGRxKFXETRHP y DSAWR, que encierran los dominios de unión al ADN AP2/EREBP de las proteínas y las distingue de otros miembros de la familia de proteínas AP2/EREBP (véase Jaglo y col. (2001) antes).

25 **[0083]** Los factores de transcripción median respuestas celulares y controlan los rasgos a través de la expresión alterada de genes que contienen secuencias de nucleótidos que actúan en cis, que son dianas del factor de transcripción introducido. Se apreciará en la técnica que el efecto de un factor de transcripción en las respuestas celulares o un rasgo celular está determinado por los genes particulares cuya expresión se altera de forma directa o indirecta (por ejemplo, por una cascada de sucesos de unión de factores de transcripción y cambios
30 transcripcionales) por la unión del factor de transcripción. En un análisis global de la transcripción comparando un estado estándar con uno en el que se expresa en exceso un factor de transcripción, el perfil de transcritos resultante asociado con el exceso de expresión del factor de transcripción está relacionado con el rasgo o proceso celular controlado por ese factor de transcripción. Por ejemplo, se ha mostrado que el gen PAP2 (y otros genes en la familia MYB) controla la biosíntesis de la antocianina a través de la regulación de la expresión de genes que se sabe que
35 están implicados en la ruta biosintética de la antocianina (Bruce y col. (2000) *Plant Cell*, 12: 65-79; Borevitz y col. (2000) *Plant Cell* 12: 2383-93). Además, los perfiles de transcritos globales se han usado con éxito como herramientas de diagnóstico para estados celulares específicos (por ejemplo, cancerosos frente a no cancerosos; Bhattacharjee y col. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 98: 13790-13795; Xu y col. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 98: 15089.15094). Por consiguiente, es evidente para el experto en la materia que la similitud del perfil de
40 transcritos tras el exceso de expresión de diferentes factores de transcripción indicaría similitud de la función del factor de transcripción.

Polipéptidos y polinucleótidos

45 **[0084]** Se describen en el presente documento, entre otras cosas, factores de transcripción (TF), y polipéptidos homólogos de factores de transcripción, y polinucleótidos aislados o recombinantes que codifican los polipéptidos o nuevos polipéptidos variantes de secuencia o polinucleótidos que codifican nuevas variantes de factores de transcripción derivados de las secuencias específicas proporcionadas en el presente documento. Estos polipéptidos y polinucleótidos se pueden utilizar para modificar una característica de planta.

50 **[0085]** Se identificaron polinucleótidos de ejemplo que codifican los polipéptidos de la lista de secuencias en la base de datos de GenBank de *Arabidopsis thaliana* usando programas y parámetros de análisis de secuencias disponibles al público. Las secuencias identificadas inicialmente después se caracterizaron adicionalmente para identificar las secuencias que comprenden cadenas de secuencia específicas correspondientes a patrones de
55 secuencia presentes en familias de factores de transcripción conocidos. Además, se identificaron otros polinucleótidos de ejemplo que codifican los polipéptidos en la base de datos de GenBank de plantas usando programas y parámetros de análisis de secuencias disponibles al público. Las secuencias identificadas inicialmente después se caracterizaron más para identificar las secuencias que comprenden cadenas de secuencia específicas correspondientes a patrones de secuencia presentes en familias de factores de transcripción conocidos. Las
60 secuencias de polinucleótidos que cumplen dichos criterios se confirmaron como factores de transcripción.

[0086] Se identificaron polinucleótidos adicionales mediante el cribado de bibliotecas de ADNc de *Arabidopsis thaliana* y/u otras plantas con sondas correspondientes a factores de transcripción conocidos en condiciones de hibridación rigurosas bajas. Posteriormente se recuperaron secuencias adicionales, incluyendo secuencias codificantes de longitud entera, mediante el procedimiento de amplificación rápida de los extremos del ADNc (RACE), usando un kit disponible en el comercio de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Cuando era
65

necesario, se llevaron a cabo varios ciclos de RACE para aislar los extremos 5' y 3'. Después, se recuperó el ADNc de longitud entera mediante una reacción en cadena de la polimerasa de extremo a extremo rutinaria (PCR) usando celadores específicos para aislar los extremos 5' y 3'. Se proporcionan secuencias de ejemplo en la Lista de Secuencias.

5 **[0087]** Los polinucleótidos se pueden expresar o fueron expresados ectópicamente en plantas sobreexpresantes o knockout y se pueden observar los cambios en la característica o características o rasgo o rasgos de las plantas. Por lo tanto, los polinucleótidos y polipéptidos se pueden utilizar para mejorar las características de las plantas.

10 **[0088]** Los polinucleótidos se pueden expresar o fueron expresados ectópicamente en células vegetales sobreexpresantes y se pueden observar los cambios en los niveles de expresión de un conjunto de genes, polinucleótidos y/o proteínas de las células vegetales. Por lo tanto, los polinucleótidos y polipéptidos se pueden utilizar para cambiar los niveles de expresión de un conjunto de genes, polinucleótidos y/o proteínas de las plantas.

15 Producción de polipéptidos

[0089] Los polinucleótidos incluyen secuencias que codifican factores de transcripción y polipéptidos homólogos de factores de transcripción y secuencias complementarias de los mismos, así como fragmentos únicos de secuencia codificante, o secuencia complementaria de la misma. Dichos polinucleótidos pueden ser, por ejemplo, ADN o ARN, por ejemplo ARNm, ARNc, ARN sintético, ADN genómico, ADNc, ADN sintético, oligonucleótidos, etc. Los polinucleótidos son de doble cadena o de cadena sencilla, e incluyen tanto secuencias de sentido directo (es decir, codificantes) como secuencias de sentido contrario (es decir, no codificantes, complementarias). Los polinucleótidos incluyen la secuencia codificante de un factor de transcripción, o un polipéptido homólogo del factor de transcripción, aislado, en combinación con secuencias codificantes adicionales (por ejemplo, un marcador de purificación, una señal de localización, como una proteína de fusión, como una preproteína o similares), en combinación con secuencias no codificantes (por ejemplo, intrones o inteínas, elementos reguladores tales como promotores, potenciadores, terminadores y similares), y/o un vector o entorno de un hospedador en el que el polinucleótido que codifica un factor de transcripción o polipéptido homólogo del factor de transcripción es un gen endógeno o exógeno.

30 **[0090]** Existe una variedad de procedimientos para producir los polinucleótidos aquí descritos. Los procedimientos para identificar y aislar clones de ADN son bien conocidos para el experto en la materia, y se describen, por ejemplo, en Berger y Kimmel, "Guide to Molecular Cloning Techniques, Methods in Enzymology", vol. 152 Academic Press, Inc., San Diego, CA ("Berger"); Sambrook y col. "Molecular Cloning - A Laboratory Manual" (2ª ed.), Vol 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, Nueva York, 1989 ("Sambrook") y "Current Protocols in Molecular Biology", Ausubel y col. eds., Current Protocols, a joint venture between Greene Publishing Associates, Inc. and John Wiley & Sons, Inc., (supplemented through 2000) ("Ausubel").

[0091] Alternativamente, los polinucleótidos se pueden producir por una variedad de procedimientos de amplificación in vitro adaptados al presente documento mediante la selección adecuada de cebadores específicos o degenerados. Los ejemplos de protocolos suficiente para dirigir a los expertos en la materia a través de los procedimientos de amplificación in vitro, que incluyen la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), reacción en cadena de la ligasa (LCR), amplificación por Q β -replicasa y otras técnicas mediadas por la ARN polimerasa (por ejemplo, NASBA), por ejemplo, para la producción de ácidos nucleicos homólogos, se encuentran en Berger (supra), Sambrook (supra), y Ausubel (supra), así como en Mullis y col. (1987) "PCR Protocols A Guide to Methods and Applications" (Innis y col. eds) Academic Press Inc. San Diego, CA (1990) (Innis). Se describen procedimientos mejorados para la clonación de ácidos nucleicos amplificados in vitro en Wallace y col. patente de EE.UU. nº 5.426.039. Se resumen procedimientos mejorados para la amplificación de ácidos nucleicos largos mediante PCR en Cheng y col. (1994) *Nature* 369: 684-685, y las referencias citadas en los mismos, en los que se generan amplicones por PCR de hasta 40 kb. Un experto en la materia apreciará que esencialmente se puede convertir cualquier ARN en un ADN de doble cadena adecuado para la digestión por restricción, expansión por PCR y secuenciación, usando transcriptasa inversa y una polimerasa. Véase, por ejemplo, Ausubel, Sambrook and Berger.

[0092] Alternativamente, los polinucleótidos y oligonucleótidos se pueden formar a partir de fragmentos producidos por procedimientos de síntesis en fase sólida. Típicamente, se sintetizan individualmente fragmentos de hasta aproximadamente 100 bases y después se ligan enzimática o químicamente para producir una secuencia deseada, por ejemplo, un polinucleótido que codifica todo o parte de un factor de transcripción. Por ejemplo, se describe la síntesis química usando el procedimiento de la fosforamidita, en Beaucage y col. (1981) *Tetrahedron Letters* 22: 1859-1869; y Matthes y col. (1984) *EMBO J.* 3: 801-805. De acuerdo con dichos procedimientos, se sintetizan oligonucleótidos, se purifican, se reasocian con su cadena complementaria, se ligan y después opcionalmente se clonan en vectores adecuados. Y si se desea, los polinucleótidos y polipéptidos se pueden encargar a cualquiera de una serie de proveedores comerciales.

Secuencias homólogas

65 **[0093]** Las secuencias homólogas a SEQ ID NO: 328, es decir, las que tienen una identidad en la secuencia de aminoácidos de por lo menos el 95% sobre la longitud completa de SEQ ID NO: 328 derivada de *Arabidopsis*

thaliana o de otras plantas elegidas, también se pueden utilizar en las plantas, procesos y usos de la invención.

[0094] Las secuencias homólogas se pueden obtener de cualquier planta incluyendo monocotiledóneas y dicotiledóneas y en particular especies de plantas importantes en agricultura, incluyendo pero sin limitar, cultivos tales como soja, trigo, maíz, patata, algodón, arroz, colza, colza de semillas oleaginosas (incluida la canola), girasol, alfalfa, trébol, caña de azúcar, y césped, o frutas y verduras, como banano, mora, arándano, fresa, y frambuesa, melón, zanahoria, coliflor, café, pepino, berenjena, uva, melón, lechuga, mango, melón dulce, cebolla, papaya, guisantes, pimientos, piña, calabaza, espinaca, chayote, maíz dulce, tabaco, tomate, tomatillo, sandía, frutas rosáceas (tales como manzana, melocotón, pera, cereza y ciruela) y vegetales Brassica (tales como el brócoli, repollo, coliflor, coles de Bruselas y colirrábano). Otros cultivos, que incluyen frutas y verduras, cuyo fenotipo se puede cambiar y que comprenden secuencias homólogas incluyen la cebada; centeno; mijo; sorgo; grosella; aguacate; frutas cítricas tales como naranjas, limones, pomelos y mandarinas, alcachofas, cerezas; frutos secos, tales como la nuez y el cacahuete, endibia, puerro, raíces como de arruruz, remolacha, yuca, nabo, el rábano, batata, y boniato; y judías. Las secuencias homólogas también se pueden obtener de las especies leñosas, tales como el pino, álamo y eucalipto o menta u otras labiadas. Además, se pueden obtener secuencias homólogas de plantas que están evolutivamente relacionadas con las plantas de cultivo, pero que pueden no haberse usado todavía como plantas de cultivo. Los ejemplos incluyen belladona (*Atropa belladonna*), relacionada con el tomate; estramonio (*Datura stramonium*), relacionada con el peyote, y el teosinta (*Zea*), relacionado con el maíz.

20 Ortólogos y parálogos

[0095] Las secuencias homólogas como las descritas antes pueden comprender secuencias ortólogas y parálogos. Son conocidos varios procedimientos diferentes por los expertos en la materia para identificar y definir estas secuencias funcionalmente homólogas. Se han descrito 3 procedimientos generales para definir ortólogos y parálogos; un ortólogo, parólogo u homólogo se puede identificar por uno o más de los procedimientos descritos a continuación.

[0096] Los ortólogos y parálogos son genes relacionados evolucionalmente que tienen una secuencia similar y funciones similares. Los ortólogos son genes estructuralmente relacionados en especies diferentes que se derivan mediante un suceso de especiación. Los parálogos son genes estructuralmente relacionados en una única especie que se derivan mediante un suceso de duplicación.

[0097] Dentro de una sola especie de planta, la duplicación de genes pueden producir dos copias de un gen particular, dando lugar a dos o más genes con secuencia similar y a menudo función similar, conocidos como parálogos. Por lo tanto, un parólogo es un gen similar formado por duplicación dentro de la misma especie. Los parálogos típicamente se agrupan entre sí o en el mismo clado (un grupo de genes similares) cuando se analiza la filogenia de una familia de genes usando programas tales como CLUSTAL (Thompson y col. (1994) *Nucleic Acids Res.* 22: 4673-4680; Higgins y col. (1996) *Methods Enzymol.* 266: 383-402). Los grupos de genes similares también se pueden identificar con el análisis de BLAST por parejas (Feng y Doolittle (1987) *J. Mol. Evol.* 25: 351-360). Por ejemplo, un clado de factores de transcripción con dominios MADS muy similares de *Arabidopsis* comparten todos una función común en el momento de la floración (Ratcliffe y col. (2001) *Plant Physiol.* 126: 122-132), y un grupo de factores de transcripción con dominios AP2 muy similares de *Arabidopsis* está implicado en la tolerancia de las plantas a la helada (Gilmour y col. (1998) *Plant J.* 16: 433-442). El análisis de grupos de genes similares con función similar que están dentro de un clado pueden dar subsecuencias que son particulares para el clado. Estas subsecuencias, conocidas como secuencias consenso, se pueden usar no sólo para definir las secuencias dentro de cada clado, sino para definir las funciones de esos genes; los genes dentro de un clado pueden contener secuencias parálogas o secuencias ortólogas que comparten la misma función (por ejemplo, en Mount (2001), en "Bioinformatics: Sequence and Genome Analysis" Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, Nueva York, página 543).

[0098] La especiación, la producción de nuevas especies a partir de una especie parental, también puede dar lugar a dos o más genes con secuencia similar y función similar. Estos genes, denominados ortólogos, a menudo tienen una función idéntica en sus plantas hospedadoras y a menudo son intercambiables entre especies sin perder la función. Debido a que las plantas tienen ancestros comunes, muchos genes en cualquier especie de planta tendrán un gen ortólogo correspondiente en otra especie de planta. Una vez que se ha construido un árbol filogenético para una familia de genes de una especie usando un programa tal como CLUSTAL (Thompson y col. (1994) *Nucleic Acids Res.* 22: 4673-4680; Higgins y col. (1996) supra), se pueden poner las potenciales secuencias ortólogas en el árbol filogenético y determinar su relación con los genes de las especies de interés. Las secuencias ortólogas también se pueden identificar por una estrategia de BLAST recíproca. Una vez que se ha identificado una secuencia ortóloga, la función del ortólogo se puede deducir de la función identificada de la secuencia de referencia.

[0099] Las secuencias de los genes de factores de transcripción están conservadas a través de diferentes líneas de especies eucariotas (Goodrich y col. (1993) *Cell* 75: 519-530; Lin y col. (1991) *Nature* 353: 569-571; Sadowski y col. (1988) *Nature* 335: 563-564). Las plantas no son una excepción a esta observación; diferentes especies de plantas tienen factores de transcripción que tienen secuencias y funciones similares.

[0100] Los genes ortólogos de organismos diferentes tienen funciones altamente conservadas, y muy a menudo funciones esencialmente idénticas (Lee y col. (2002) *Genome Res.* 12: 493-502; Remmy col. (2001) *J. Mol. Biol.* 314: 1041-1052). Los genes parálogos, que han divergido por la duplicación de genes, pueden retener funciones similares de las proteínas codificadas. En dichos casos, los parálogos se pueden usar de forma intercambiable con respecto a determinadas realizaciones de la presente invención (por ejemplo, expresión transgénica de una secuencia codificante). Un ejemplo de dichos parálogos muy relacionados es la familia CBF, con 3 miembros bien definidos en *Arabidopsis* y por lo menos un ortólogo en *Brassica napus* (SEQ ID No: 2238, 2240, 2242 y 2244, respectivamente), los cuales controlan todos las rutas implicadas en el estrés tanto por helada como por sequía (Gilmour y col. (1998) *Plant J.* 16: 433-442; Jaglo y col. (1998) *Plant Physiol.* 127: 910-917).

[0101] Las siguientes referencias representan una pequeña muestra de los muchos estudios que demuestran que los genes de factores de transcripción conservados de diferentes especies es probable que funcionen de forma similar (es decir, regulan secuencias diana similares y controlan los mismos rasgos), y que se pueden transformar los factores de transcripción en diversas especies para conferir o mejorar rasgos.

(1) El gen NPR1 de *Arabidopsis* regula la resistencia sistémica adquirida (SAR); la sobreexpresión de NPR1 conduce a una resistencia potenciada en *Arabidopsis*. Cuando NPR1 de *Arabidopsis* o el ortólogo de NPR1 del arroz se expresaban en exceso en el arroz (el cual, como una monocotiledónea, es diferente de *Arabidopsis*), las plantas transgénicas presentaban una resistencia potenciada a la estimulación con el patógeno bacteriano del añublo del arroz *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* (Chern y col. (2001) *Plant J.* 27: 101-113). NPR1 actúa a través de la activación de la expresión de los genes de factores de transcripción, tales como TGA2 (Fan y Dong (2002) *Plant Cell* 14: 1377-1389).

(2) Los genes E2F están implicados en la transcripción de genes de plantas para el antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA). Los E2F de plantas comparten un grado alto de similitud en la secuencia de aminoácidos entre monocotiledóneas y dicotiledóneas, y son incluso similares a los dominios conservados de los E2F de animales. Dicha conservación indica una similitud funcional entre EsF de plantas y animales. Los factores de transcripción E2F que regulan el desarrollo del meristemo actúan a través de elementos cis comunes, y regulan genes relacionados (PCNA) (Kosugi y Ohashi, (2002) *Plant J.* 29: 45-59).

(3) El gen ABI5 (insensible a ABA 5) codifica un factor de la cremallera de leucina básico necesario para la respuesta de ABA en la semilla y los tejidos vegetativos. Los experimentos de transformación simultánea con construcciones de ADNc de ABI5 en protoplastos de arroz dieron como resultado la trasactivación específica de promotores del trigo, *Arabidopsis*, judía y cebada inducibles por ABA. Estos resultados demuestran que los factores de transcripción similares en secuencia a ABI5 son dianas clave de una ruta de señalización de ABA conservada en diversas plantas (Gampala y col. (2001) *J. Biol. Chem.* 277: 1689-1694).

(4) Las secuencias de 3 genes de tipo GAMYB de *Arabidopsis* se obtuvieron basándose en la similitud de secuencia con los genes GAMYB de la cebada, arroz y *L. temulentum*. Se determinó que estos 3 genes de *Arabidopsis* codificaban factores de transcripción (AtMYB33, AtMYB65 y AtMYB101) y podían sustituir la expresión de GAMYB de la cebada y de la α -amilasa de control (Gocal y col. (2001) *Plant Physiol.* 127: 1682-1693).

(5) El gen del control floral LEAFY de *Arabidopsis* puede acelerar espectacularmente la floración en numerosas plantas dicotiledóneas. La expresión constitutiva de LEAFY de *Arabidopsis* también producía la floración temprana en el arroz transgénico (una monocotiledónea), con una fecha de espigamiento que era 26-34 días antes que la de las plantas tipo salvaje. Estas observaciones indican que los genes reguladores de la floración de *Arabidopsis* son herramientas útiles para mejorar la fecha de espigamiento en cultivos de cereales (He y col. (2000) *Transgenic Res.* 9: 223-227).

(6) Las giberelinas (GA) bioactivas son reguladores endógenos esenciales del crecimiento de la planta. La señalización de GA tiende a ser conservada a través del reino vegetal. La señalización de GA es mediada por GAI, un miembro nuclear de la familia GRAS de factores de transcripción de plantas. Se ha mostrado que GAI de *Arabidopsis* funciona en el arroz para inhibir las rutas de respuestas a las giberelinas (Fu y col. (2001) *Plant Cell* 13: 1791-1802).

(7) El gen SUPERMAN (SUP) de *Arabidopsis* codifica un factor de transcripción presunto que mantiene el límite entre los estambres y los carpelos. Mediante la sobreexpresión de SUP de *Arabidopsis* en el arroz, se mostró que el efecto de la presencia de los genes en los bordes de los verticilos era conservado. Esto demostraba que SUP es un regulador conservado de los bordes de los verticilos florales y afecta a la proliferación celular (Nandi y col. (2000) *Curr. Biol.* 10: 215-218).

(8) Los factores de transcripción myb de maíz, petunia y *Arabidopsis* que regulan la biosíntesis de flavonoides son genéticamente similares y afectan al mismo rasgo en su especie nativa; por lo tanto, la secuencia y la función de estos factores de transcripción myb se correlacionan entre sí en diversas especies (Borevitz y col. (2000) *Plant Cell* 12: 2383-2394).

(9) Los genes de la altura reducida del trigo 1 (Rht-B1/Rht-D1) y maíz enano 8 (d8) son ortólogos del gen insensible a la giberelina (GAI) de *Arabidopsis*. Ambos genes se han usado para producir variedades de grano enano que tiene un mejor rendimiento de granos. Estos genes codifican proteínas que se parecen a los factores de transcripción nucleares y contienen un dominio de tipo SH-2, indicando que la fosfotirosina puede participar en la señalización de la giberelina. Las plantas de arroz transgénicas que contienen un alelo de GAI mutante de *Arabidopsis* han mostrado producir menores respuestas a la giberelina y las hacen enanas, indicando que los ortólogos de GAI mutantes se podrían usar para aumentar el rendimiento en una amplia variedad especies de cultivo (Peng y col. (1999) *Nature* 400: 256-261).

[0102] A nivel de nucleótidos, las secuencias típicamente compartirán una identidad de secuencia de nucleótidos de por lo menos aproximadamente 40%, preferiblemente por lo menos aproximadamente 50%, aproximadamente 60%, aproximadamente 70% o aproximadamente 80% de identidad de secuencia y más preferiblemente aproximadamente 85%, aproximadamente 90%, aproximadamente 95% o aproximadamente 97% o mayor identidad de secuencia con una o más de las secuencias listadas, o con una secuencia listada pero excluyendo o fuera de una secuencia consenso conocida o sitio de unión al ADN consenso, o fuera de uno o todos los dominios conservados. La degeneración del código genético permite variaciones importantes de la secuencia de nucleótidos de un polinucleótido mientras que se mantiene la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada. Los dominios conservados en una familia de factores de transcripción pueden presentar un grado mayor de homología de secuencia, tal como una identidad de secuencia de aminoácidos de por lo menos 80%, y más preferiblemente por lo menos 85%, o por lo menos aproximadamente 86%, o por lo menos aproximadamente 87%, o por lo menos aproximadamente 88%, o por lo menos aproximadamente 90%, o por lo menos aproximadamente 95%, o por lo menos aproximadamente 98% de identidad de secuencia. Los factores de transcripción que son homólogos con las secuencias listadas deben compartir una identidad de secuencia de aminoácidos de por lo menos 95% sobre la longitud entera del polipéptido o el homólogo.

[0103] El porcentaje de identidad se puede determinar electrónicamente, por ejemplo usando el programa MEGALIGN (DNASTAR, Inc. Madison, Wis.). El programa MEGALIGN puede crear alineamientos entre dos o más secuencias de acuerdo con diferentes procedimientos, por ejemplo, el procedimiento clustal. (Véase, por ejemplo, en Higgins y Sharp (1988) *Gene* 73: 237-244). El algoritmo clustal agrupa secuencias en agrupaciones examinando las distancias entre todos los pares. Las agrupaciones se alinean en parejas y después en grupos. Se pueden usar otros programas o algoritmos de alineamiento, incluyendo FASTA, BLAST, o ENTREZ, FASTA y BLAST, y se pueden usar para calcular el porcentaje de similitud. Éstos están disponibles como parte del paquete de análisis de secuencia GCG (Universidad de Wisconsin, Madison, Wis.), y se pueden usar con o sin los parámetros por defecto. ENTREZ está disponible en el National Center for Biotechnology Information. En una realización, el porcentaje de identidad de dos secuencias se puede determinar mediante el programa GCG con un peso de hueco de 1, por ejemplo, cada hueco de aminoácido se pesa como si fuera un solo aminoácido o emparejamiento erróneo de nucleótido entre las dos secuencias (USPN 6.262.333).

[0104] Se describen otras técnicas de alineamiento en *Enzymology*, vol. 266, "Computer Methods for Macromolecular Sequence Analysis" (1996), ed. Doolittle, Academic Press, Inc., San Diego, Calif., EE.UU. Preferiblemente, se usa un programa de alineamiento que permite huecos en la secuencia para alinear las secuencias. El Smith-Waterman es un tipo de algoritmo que permite huecos en los alineamientos de secuencias (Shpaer (1997) *Methods Mol. Biol.* 70: 173-187). También se puede usar el programa GAP, usando el procedimiento de alineamiento de Needleman y Wunsch para alinear las secuencias. Una estrategia de búsqueda alternativa usa el software MPSRCH, el cual funciona en un ordenador MASPARG. MPSRCH usa un algoritmo de Smith-Waterman para puntuar las secuencias en un ordenador de procesamiento paralelo masivo. Este procedimiento implica la capacidad de coger emparejamientos relacionados a distancia, y es especialmente tolerante para huecos pequeños y errores de secuencias de nucleótidos. Las secuencias de aminoácidos codificadas por ácidos nucleicos se pueden usar para buscar en bases de datos tanto de proteínas como de ADN.

[0105] El porcentaje de similitud entre dos secuencias de polipéptido, por ejemplo la secuencia A y la secuencia B, se calcula dividiendo la longitud de la secuencia A, menos el número de huecos de residuos de la secuencia A, menos el número de residuos de huecos en la secuencia B, entre la suma de los emparejamientos de residuos entre la secuencia A y la secuencia B, por cien. Los huecos sin o con poca similitud entre las dos secuencias de aminoácidos no están incluidos en la determinación del porcentaje de similitud. El porcentaje de identidad entre secuencias de polinucleótidos también se puede contar o calcular por otros procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, el procedimiento de Jotun Hein. (Véase, por ejemplo, Hein (1990) *Methods Enzymol.* 183: 626-645). La identidad entre secuencias también se puede determinar por otros procedimientos conocidos en la técnica, por ejemplo, variando las condiciones de hibridación (solicitud de patente de EE.UU. N° 20010010913).

[0106] El porcentaje de identidad entre dos dominios conservados de una secuencia de polipéptido consenso del dominio de unión a ADN del factor de transcripción puede ser como mínimo un 16%, ejemplificado en el caso de la familia GATA1 de factores de transcripción de dedos de zinc del tipo Cys₂/Cys₂ eucariotas. La secuencia del polipéptido consenso del dominio de unión a ADN de la familia GATA1 es CX₂CX₁₇CX₂C, donde X es cualquier residuo de aminoácido. (Véase, por ejemplo, Takatsuji, supra.) Otros ejemplos de dichas secuencias de polipéptido

consenso conservadas con un porcentaje de identidad de secuencia globalmente bajo son bien conocidos por los expertos en la materia.

5 **[0107]** Por lo tanto, se describen aquí procedimientos para identificar una secuencia similar o paróloga u ortóloga u homóloga de uno o más polinucleótidos como se indica en el presente documento, o uno o más polipéptidos diana codificados por los polinucleótidos, o lo que se indique de otra manera en el presente documento, y puede incluir la conexión o asociación del fenotipo de una planta dada o función génica con una secuencia. En los procedimientos, se proporciona una base de datos de secuencias (local o a través de internet o intranet) y se plantea una cuestión frente a la base de datos de secuencias usando las secuencias relevantes del presente documento y los fenotipos de plantas o funciones de genes asociados.

15 **[0108]** Además, se pueden usar una o más secuencias de polinucleótidos o uno o más polipéptidos codificados por las secuencias de polinucleótidos para buscar frente a BLOCKS (Bairoch y col. (1997) *Nucleic Acids Res.* 25: 217-221), PFAM, y otras bases de datos que contienen patrones, secuencias y funciones de genes previamente identificados y anotados. Se pueden usar los procedimientos que buscan patrones de secuencia primaria con penalizaciones por huecos en la estructura secundaria (Smith y col. (1992) *Protein Engineering* 5: 35-51) así como algoritmos tales como Basic Local Alignment Search Tool (BLAST; Altschul (1993) *J. Mol. Evol.* 36: 290-300; Altschul y col. (1990) ver antes), BLOCKS (Henikoff y Henikoff (1991) *Nucleic Acids Res.* 19: 6565-6572), Hidden Markov Models (HMM; Eddy (1996) *Curr. Opin. Str. Biol.* 6: 361-365; Sonnhammer y col. (1997) *Proteins* 28: 405-420), y similares, para manipular y analizar secuencias de polinucleótidos y polipéptidos codificados por los polinucleótidos. Estas bases de datos, algoritmos y otros procedimientos son bien conocidos en la técnica y se describen en Ausubel y col. (1997) "Short Protocols in Molecular Biology", John Wiley & Sons, Nueva York, NY, unit 7.7) y en Meyers (1995) "Molecular Biology and Biotechnology", Wiley VCH, Nueva York, NY, p 856-853).

25 **[0109]** Un procedimiento adicional para identificar o confirmar que las secuencias homólogas específicas controlan la misma función es por comparación del o de los perfiles de los transcritos obtenidos tras la expresión en exceso o inactivación de dos o más factores de transcripción relacionados. Puesto que los perfiles de transcritos son diagnóstico para estados celulares específicos, un experto la materia apreciará que los genes que tienen un perfil de transcritos muy similar (por ejemplo, con más de 50% de los transcritos regulados en común, más preferiblemente con más de 70% de los transcritos regulados en común, lo más preferiblemente con más de 90% de los transcritos regulados en común) tendrán funciones muy similares. Fowler y col. (2002) *Plant Cell* 14: 1675-1679) han mostrado que 3 genes parálogos de la familia AP2 (CBF1, CBF2 y CBF3), cada uno de los cuales es inducido tras tratamiento con frío, y cada uno de los cuales pueden condicionar una mejor tolerancia a la helada, tienen perfiles de transcritos muy similares. Una vez que se ha mostrado que un factor de transcripción proporciona una función específica, su perfil de transcritos se convierte en una herramienta de diagnóstico para determinar si parálogos u ortólogos presuntos tienen la misma función.

40 **[0110]** Además, se pueden usar procedimientos que usan el alineamiento manual de secuencias similares u homólogas con una o más secuencias de polinucleótidos o uno o más polipéptidos codificados por las secuencias de polinucleótidos, para identificar regiones de similitud y dominios de unión de AP2. Dichos procedimientos manuales son bien conocidos para el experto en la materia y pueden incluir, por ejemplo, comparaciones de la estructura terciaria entre una secuencia de polipéptido codificada por un polinucleótido que comprende una función conocida con una secuencia de polipéptido codificado por una secuencia de polinucleótido que tiene una función todavía no determinada. Dichos ejemplos de estructura terciaria pueden comprender hélices α , láminas β , hélices anfipáticas, patrones de cremallera de leucina, patrones de dedos de cinc, regiones ricas en prolina, patrones de repetición de cisteína, y similares.

50 **[0111]** Los ortólogos y parálogos de los presentes factores de transcripción descritos, se pueden clonar usando composiciones proporcionadas por el presente documento de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica. Los ADNc se pueden clonar usando ARNm de una célula o tejido de planta que expresa uno de los presentes factores de transcripción. Las fuentes de ARNm adecuadas se pueden identificar examinando transferencias Northern con sondas diseñadas a partir de secuencias de los presentes factores de transcripción, después de lo cual se prepara una biblioteca a partir del ARNm obtenido de una célula o tejido positivo. Después, el ADNc que codifica el factor de transcripción se aísla usando, por ejemplo, la PCR, usando cebadores diseñados a partir de la secuencia de genes del presente factor de transcripción descrito, o mediante hibridación con un ADNc parcial o completa o con uno o más conjuntos de sondas degeneradas basadas en las secuencias descritas. La biblioteca de ADNc se puede usar para transformar células de plantas. La expresión de los ADNc de interés se detecta usando, por ejemplo, los procedimientos descritos en el presente documento tales como micromatrices, transferencias Northern, PCR cuantitativa, o cualquier otra técnica para el seguimiento de los cambios en la expresión. Los clones genómicos se pueden aislar usando técnicas similares a estas.

Identificación de polinucleótidos o ácidos nucleicos por hibridación

65 **[0112]** Los polinucleótidos homólogos a las secuencias ilustradas en la Lista de Secuencias y en las tablas, se pueden identificar, por ejemplo, por hibridación entre sí en condiciones rigurosas o muy rigurosas. Los polinucleótidos monocatenarios hibridan cuando se asocian basándose en una variedad de fuerzas fisicoquímicas

bien caracterizada, tales como enlaces de hidrógeno, exclusión de disolvente, apilamiento de bases y similares. La restricción de una hibridación refleja el grado de identidad de secuencia de los ácidos nucleicos implicados, de modo que cuanto más altas son las condiciones rigurosas, más similares son las dos cadenas de polinucleótido. En las condiciones rigurosas influyen una variedad de factores, incluyendo la temperatura, concentración de sales y composición, aditivos orgánicos y no orgánicos, disolventes, etc. presentes tanto en las disoluciones de hibridación como en las de lavado, e incubaciones (y número de las mismas), como se describe con más detalle en las referencias citadas antes.

[0113] La presente descripción comprende secuencias de polinucleótidos que son capaces de hibridar con las secuencias de polinucleótidos reivindicadas, incluyendo cualquiera de los polinucleótidos de factores de transcripción en el Listado de Secuencias y fragmentos de los mismos bajo condiciones de rigurosidad (véase, por ejemplo, Wahl y Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152: 399-407; y Kimmel (1987) *Methods Enzymol.* 152: 507-511). Además de las secuencias de nucleótidos indicadas en las Tablas 4-9, se pueden identificar y aislar ADNc de longitud completa, ortólogos y parálogos de las presentes secuencias de nucleótidos utilizando procesos bien conocidos. Las bibliotecas de ADNc, ortólogos y parálogos de las presentes secuencias de nucleótidos se pueden cribar utilizando procesos de hibridación para determinar su utilidad como diana de hibridación o sondas de amplificación.

[0114] Con respecto a la hibridación, condiciones que son altamente rigurosas, y medios para conseguirlas, son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook et al. (1989) "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory); Berger y Kimmel, eds., (1987) "Guide to Molecular Cloning Techniques", en *Methods in Enzymology*: 152: 467-469; y Anderson and Young (1985) "Quantitative Filter Hybridisation." en: Hames and Higgins, ed., *Nucleic Acid Hybridisation, A Practical Approach*. Oxford, IRL Press, 73-111.

[0115] A la estabilidad de los dúplex de ADN le afecta factores tales como la composición de bases, longitud y grado de emparejamiento erróneo de los pares de bases. Las condiciones de hibridación se pueden ajustar para permitir que los ADN de diferentes secuencias relevantes hibriden. La temperatura de fusión (T_f (T_m en inglés)) se define como la temperatura cuando 50% de las moléculas de dúplex se han disociado en sus constituyentes de cadenas sencillas. Las temperaturas de fusión de una cadena doble perfectamente emparejado, en el que el tampón de hibridación contiene formamida como agente desnaturizante, se puede calcular por las siguientes ecuaciones:

(I) ADN-ADN:

$$T_m(^{\circ}\text{C}) = 81,5 + 16,6(\log [\text{Na}^+]) + 0,41(\% \text{G+C}) - 0,62(\% \text{formamida}) - 500/L$$

(II) ADN-ARN:

$$T_m(^{\circ}\text{C}) = 79,8 + 18,5(\log [\text{Na}^+]) + 0,58(\% \text{G+C}) + 0,12(\% \text{G+C})^2 - 0,5(\% \text{formamida}) - 820/L$$

(III) ARN-ARN:

$$T_m(^{\circ}\text{C}) = 79,8 + 18,5(\log [\text{Na}^+]) + 0,58(\% \text{G+C}) + 0,12(\% \text{G+C})^2 - 0,35(\% \text{formamida}) - 820/L$$

en las que L es la longitud del dúplex formado, $[\text{Na}^+]$ es la concentración molar del ion sodio en la disolución de hibridación o de lavado, y % de G+C es el porcentaje de las bases (guanina + citosina) en el híbrido. Para híbridos emparejados de forma imperfecta, es necesario aproximadamente 1°C para reducir la temperatura de fusión para cada 1% de emparejamientos erróneos.

[0116] Los experimentos de hibridación en general se llevan a cabo en un tampón con pH entre 6,8 y 7,4, aunque la velocidad de hibridación es casi independiente del pH a las fuerzas iónicas que es probable que se usen en el tampón de hibridación (Anderson y col. (1985) ver antes). Además, se puede usar uno o más de los siguientes para reducir la hibridación no específica: ADN de esperma de salmón tratado con ultrasonidos u otro ADN no complementario, albúmina de suero bovino, pirofosfato de sodio, dodecilsulfato de sodio (SDS), polivinilpirrolidona, Ficoll y disolución de Denhardt. El sulfato de dextrano y el polietilenglicol 6000 actúan para excluir el ADN de la disolución, aumentando así la concentración de ADN sonda eficaz y la señal de hibridación en una unidad de tiempo dada. En algunos casos, pueden ser deseables o necesarias condiciones incluso más rigurosas para reducir la hibridación de fondo y/o no específica. Estas condiciones se pueden crear con el uso de temperatura mayor, fuerza iónica menor y mayor concentración de un agente desnaturizante tal como la formamida.

[0117] Las condiciones rigurosas se pueden ajustar para cribar fragmentos moderadamente similares tales como secuencias homólogas de organismos relacionados de forma distante, o fragmentos muy similares tales como genes que duplican enzimas funcionales de organismos relacionados de cerca. Las condiciones rigurosas se pueden

ajustar durante la etapa de hibridación, o en los lavados posteriores a la hibridación. La concentración de sal, concentración de formamida, temperatura de hibridación y longitud de la sonda, son variables que se pueden usar para alterar las condiciones rigurosas (como se describe mediante la fórmula anterior). Como norma general las condiciones muy rigurosas se llevan a cabo típicamente de $T_f-5^\circ\text{C}$ a $T_f-20^\circ\text{C}$, condiciones rigurosas moderadas de $T_f-20^\circ\text{C}$ a $T_f-35^\circ\text{C}$ y condiciones poco rigurosas de $T_f-35^\circ\text{C}$ a $T_f-50^\circ\text{C}$, para dúplex de >150 pares de bases. La hibridación se puede llevar a cabo en condiciones de poco rigurosas a moderadas (25-50°C por debajo de la T_f), seguido de lavados posteriores a la hibridación con condiciones rigurosas crecientes. Las velocidades de hibridación máximas en disolución se determina empíricamente que se producen a $T_f-25^\circ\text{C}$ para dúplex de ADN-ADN y $T_f-15^\circ\text{C}$ para dúplex de ARN-ADN. Opcionalmente, el grado de disociación se puede evaluar después de cada etapa de lavado para determinar la necesidad de posteriores etapas de lavado, de condiciones más rigurosas.

[0118] Las condiciones rigurosas altas se pueden usar para seleccionar secuencias de ácidos nucleicos con grados altos de identidad con las secuencias descritas. Un ejemplo de condiciones de hibridación rigurosas obtenidas en un procedimiento basado en filtro, tal como una transferencia Southern o Northern para la hibridación de ácidos nucleicos complementarios que tienen más de 100 residuos complementarios, es aproximadamente de 5°C a 20°C inferior que el punto de fusión térmico (T_f) para la secuencia específica con una fuerza iónica y pH definidos. Las condiciones usadas para la hibridación pueden incluir cloruro de sodio de aproximadamente 0,02 M a aproximadamente 0,15 M, caseína de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 5%, SDS aproximadamente al 0,02% o N-laurilsarcosina aproximadamente al 0,1%, citrato de sodio de aproximadamente 0,001 M a aproximadamente 0,03 M, a temperaturas de hibridación entre aproximadamente 50°C y aproximadamente 70°C . Más preferiblemente, las condiciones muy rigurosas son cloruro de sodio aproximadamente 0,02 M, caseína aproximadamente al 0,5%, SDS aproximadamente al 0,02%, citrato de sodio aproximadamente 0,001 M, a una temperatura de aproximadamente 50°C . Las moléculas de ácido nucleico que hibridan en condiciones rigurosas típicamente hibridarán con una sonda basada en la molécula de ADN entera o partes seleccionadas, por ejemplo, con una subsecuencia única del ADN.

[0119] La concentración de sal rigurosa normalmente será menor de aproximadamente NaCl 750 mM y citrato trisódico 75 mM. Se pueden obtener condiciones rigurosas crecientes con menos de aproximadamente NaCl 500 mM y citrato trisódico 50 mM, hasta condiciones incluso más rigurosas con menos de aproximadamente NaCl 250 mM y citrato trisódico 25 mM. La hibridación en condiciones poco rigurosas se puede obtener en ausencia de disolvente orgánico, por ejemplo, formamida, mientras que la hibridación en condiciones muy rigurosas se puede obtener en presencia de formamida por lo menos aproximadamente al 35% y más preferiblemente formamida por lo menos aproximadamente al 50%. Las condiciones de temperatura rigurosas normalmente incluirán temperaturas de por lo menos aproximadamente 30°C , más preferiblemente de por lo menos aproximadamente 37°C y lo más preferiblemente de por lo menos aproximadamente 42°C , con formamida presente. Los diversos parámetros adicionales, tales como el tiempo de hibridación, la concentración de detergentes, por ejemplo, de dodecilsulfato de sodio (SDS) y la fuerza iónica, son bien conocidas por el experto en la materia. Los diferentes niveles de condiciones rigurosas se logran combinando estas diferentes condiciones según sea necesario.

[0120] Las etapas de lavado que siguen a la hibridación también pueden tener distintas condiciones rigurosas; las etapas de lavado posteriores a la hibridación determinan principalmente la especificidad de la hibridación, siendo los factores más críticos la temperatura y la fuerza iónica de la disolución de lavado final. Las condiciones de lavado rigurosas se pueden aumentar disminuyendo la concentración de sales o aumentando la temperatura. Las condiciones rigurosas de la concentración de sales para las etapas de lavado serán preferiblemente menores de aproximadamente NaCl 3 mM y citrato sódico 3 mM, y lo más preferiblemente menores de aproximadamente NaCl 1,5 mM y citrato sódico 1,5 mM.

[0121] Por lo tanto, las condiciones de hibridación y de lavado que se pueden usar para unir y eliminar polinucleótidos con homología menor de la deseada con las secuencias de ácidos nucleicos o sus complementarias que codifican los factores de transcripción presentes incluyen, por ejemplo:

6X SSC a 65°C ;

formamida al 50%, 4X SSC a 42°C ; o

0,5X SSC, SDS al 0,1% a 65°C ;

con, por ejemplo, 2 etapas de lavado de 10-30 minutos cada una. Las variaciones útiles de estas condiciones serán fácilmente evidentes para el experto en la materia.

[0122] Un experto en la materia no esperará una variación sustancial entre las especies de polinucleótidos abarcadas en el alcance de la presente invención, porque las condiciones muy rigurosas expuestas en las fórmulas anteriores dan polinucleótidos estructuralmente similares.

[0123] Si se desea, se pueden usar etapas de lavado incluso más rigurosas, incluyendo aproximadamente 0,2X SSC, SDS al 0,1% a 65°C y lavado dos veces, siendo cada etapa de lavado de aproximadamente 30 min, o aproximadamente 0,1 X SSC, SDS al 0,1% a 65°C y lavado dos veces durante 30 min. La temperatura de las disoluciones de lavado normalmente será por lo menos aproximadamente 25°C , y para condiciones más rigurosas por lo menos aproximadamente 42°C . Las condiciones rigurosas de la hibridación se pueden aumentar incluso más

usando las mismas condiciones que en las etapas de hibridación, aumentando la temperatura de lavado de aproximadamente 3°C a aproximadamente 5°C, y las condiciones rigurosas se pueden aumentar incluso más usando las mismas condiciones excepto que la temperatura de lavado se aumenta de aproximadamente 6°C a aproximadamente 9°C. Para la identificación de homólogos menos relacionados, las etapas de lavado se pueden llevar a cabo a una temperatura inferior, por ejemplo, 50°C.

[0124] Un ejemplo de una etapa de lavado de condiciones rigurosas bajas usa una disolución y condiciones de por lo menos 25°C en NaCl 30 mM, citrato trisódico 3 mM y SDS al 0,1% durante 30 min. Se pueden obtener condiciones más rigurosas a 42°C en NaCl 15 mM, citrato trisódico 1,5 mM y SDS al 0,1% durante 30 min. Se obtienen condiciones incluso más rigurosas a 65-68°C en una disolución de NaCl 15 mM, citrato trisódico 1,5 mM y SDS al 0,1%. Los procedimientos de lavado usarán en general por lo menos 2 etapas finales de lavado. Las variaciones adicionales de estas condiciones serán fácilmente evidentes para el experto en la materia (véase, por ejemplo, la solicitud de patente de EE.UU. N° 20010010913).

[0125] Las condiciones rigurosas se pueden seleccionar de modo que un oligonucleótido que sea perfectamente complementario con el oligonucleótido codificante hibride con el oligonucleótido codificante con una relación de señal a ruido de por lo menos aproximadamente 5-10x mayor que la relación para la hibridación del oligonucleótido perfectamente complementario con un ácido nucleico que codifica un factor de transcripción conocido en la fecha de presentación de la solicitud. Puede ser deseable seleccionar condiciones para un ensayo particular de modo que se obtenga una relación de señal a ruido mayor, es decir, aproximadamente 15x o más. Por consiguiente, un ácido nucleico objeto hibridará con un oligonucleótido codificante único con una relación de señal a ruido de por lo menos 2x o mayor, comparado con la hibridación del oligonucleótido codificante con un ácido nucleico que codifica un polipéptido conocido. La señal particular dependerá del marcador usado en el ensayo pertinente, por ejemplo, un marcador fluorescente, un marcador colorimétrico, un marcador radiactivo, o similares. La hibridación marcada o sondas de PCR para detectar secuencias de polinucleótidos relacionadas se pueden producir por oligomarcaje, traslado de mellas, marcate del extremo o amplificación por PCR usando un nucleótido marcado.

[0126] El presente documento abarca secuencias de polinucleótidos que codifican polipéptidos capaces de regular la transcripción, siendo dichas secuencias de polinucleótidos capaces de hibridar con las secuencias de polinucleótidos reivindicadas, incluyendo aquellas listadas en la Lista de Secuencias, o polinucleótidos que codifican los polipéptidos listados en la Lista de Secuencias y específicamente SEQ ID Nos: 1-2237, y fragmentos de los mismo bajo diversas condiciones de rigurosidad. (Véase, por ejemplo, Wahl y Berger (1987) *Methods Enzymol.* 152: 399-407, y Kimmel (1987) *Methods Enzymol.* 152: 507-511). Las valoraciones de homología se proporcionan por hibridación de ADN-ADN o ADN-ARN en condiciones rigurosas como entienden bien los expertos en la materia (Hames y Higgins, Eds. (1985) "Nucleic Acid Hybridisation: A Practical Approach", IRL Press, Oxford, Reino Unido). Las condiciones rigurosas se pueden ajustar para cribar fragmentos moderadamente similares, tales como secuencias homólogas de organismos relacionados lejanamente, hasta fragmentos muy similares, tales como genes que duplican enzimas funcionales de organismos estrechamente relacionados. Los lavados posteriores a la hibridación determinan las condiciones rigurosas.

Identificación de polinucleótidos o ácidos nucleicos con bibliotecas de expresión

[0127] Además de los procedimientos de hibridación, se pueden obtener polipéptidos homólogos de factores de transcripción mediante el cribado de una biblioteca de expresión usando anticuerpos específicos para uno o más factores de transcripción. Proporcionando en el presente documento el factor de transcripción descrito y secuencias de ácidos nucleicos homólogas de los factores de transcripción, el o los polipéptidos codificados se pueden expresar y purificar en un sistema de expresión heterólogo (por ejemplo, *E. coli*) y usar para producir anticuerpos (monoclonales o policlonales) específicos para el o los polipéptidos en cuestión. También se pueden producir anticuerpos contra péptidos sintéticos derivados de secuencias de aminoácidos de un factor de transcripción u homólogo del factor de transcripción. Los procedimientos para producir anticuerpos son bien conocidos en la técnica y se describen en Harlow y Lane (1988), "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York. Dichos anticuerpos se pueden usar después para cribar una biblioteca de expresión producida a partir de la planta de la cual se desean clonar homólogos de factores de transcripción adicionales, usando los procedimientos descritos antes. Los ADNc seleccionados se pueden confirmar mediante secuenciación y actividad enzimática.

Variaciones de secuencia

[0128] Los expertos en la materia apreciarán fácilmente que cualquiera de una variedad de secuencias de polinucleótidos son capaces de codificar los factores de transcripción y polipéptidos homólogos de factores de transcripción aquí descritos. Debido a la degeneración del código genético, muchos polinucleótidos diferentes pueden codificar polipéptidos idénticos y/o sustancialmente similares además de las secuencias ilustradas en la Lista de Secuencias. También están contemplados ácidos nucleicos que tienen una secuencia que difiere de las secuencias mostradas en la Lista de Secuencias, o secuencias complementarias, que codifican péptidos funcionalmente equivalentes (es decir, péptidos que tienen el mismo grado de actividad biológica equivalente o similar) pero difieren en la secuencia respecto a la secuencia mostrada en la Lista de Secuencias debido a la degeneración del código genético.

[0129] Las secuencias de polinucleótidos alteradas que codifican polipéptidos incluyen las secuencias con eliminaciones, inserciones o sustituciones de diferentes nucleótidos, que dan como resultado un polinucleótido que codifica un polipéptido con por lo menos una característica funcional de los presentes polipéptidos. Están incluidos en esta definición los polimorfismos que pueden ser o no fácilmente detectables usando una sonda de oligonucleótido particular del polinucleótido que codifica los presentes polipéptidos, y la hibridación inadecuada o inesperada con variantes alélicas, con un locus distinto del locus cromosómico normal para la secuencia de polinucleótido que codifica los presentes polipéptidos.

[0130] Las variantes alélicas se refieren a cualquiera de dos o más formas alternativas de un gen que ocupan el mismo locus cromosómico. La variación alélica surge naturalmente por mutación, y puede dar como resultado polimorfismo fenotípico dentro de las poblaciones. Las mutaciones de genes pueden ser silenciosas (es decir no hay cambio en el polipéptido codificado) o pueden codificar polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos alterada. La expresión variante alélica también se usa en el presente documento para indicar una proteína codificada por una variante alélica de un gen. La variante por corte y empalme se refiere a formas alternativas de ARN transcritas a partir de un gen. La variación por corte y empalme surge de forma natural por el uso de sitios de corte y empalme alternativos dentro de una molécula de ARN transcrita, o de forma menos común entre moléculas de ARN transcritas por separado, y puede producir varios ARNm transcritos a partir del mismo gen. Las variantes por corte y empalme pueden codificar polipéptidos que tienen la secuencia de aminoácidos alterada. La expresión variante por corte y empalme también se usa en el presente documento para indicar una proteína codificada por una variante por corte y empalme de un ARNm transcrito a partir de un gen.

[0131] Los ADNc generados a partir de ARNm de corte y empalme alternativo, que retienen las propiedades del factor de transcripción están incluidos dentro del alcance del presente documento, como lo están los polipéptidos codificados por dichos ADNc y ARNm. Las variantes alélicas y variantes por corte y empalme de estas secuencias se pueden clonar por hibridación de bibliotecas de ADNc o genómicas de diferentes organismos o tejidos individuales de acuerdo con procedimientos estándar conocidos en la técnica (documento USPN 6.388.064).

[0132] Las moléculas de ácido nucleico relacionadas también incluyen secuencias de nucleótidos que codifican un polipéptido que comprende una sustitución, modificación, adición y/o eliminación de uno o más residuos de aminoácidos comparado con las secuencias de polipéptidos de la Lista de Secuencias. Dichos polipéptidos relacionados pueden comprender, por ejemplo, adiciones y/o eliminaciones de uno o más sitios de glicosilación unidos a N o unidos a O, o una adición y/o una eliminación de uno o más residuos de cisteína.

[0133] Por ejemplo, la tabla 1 ilustra, por ejemplo, que los codones AGC, AGT, TCA, TCC, TCG, y TCT codifican todos el mismo aminoácido: la serina. Por consiguiente, en cada posición en la secuencia en la que hay un codón que codifica una serina, se puede usar cualquiera de las secuencias trinucleótidas anteriores sin alterar el polipéptido codificado.

Tabla 1

Aminoácido			Posibles Codones						
Alanina	Ala	A	GCA	GCC	GCG	GCU			
Ácido aspártico	Asp	D	GAC	GAT					
Ácido glutámico	Glu	E	GAA	GAG					
Fenilalanina	Phe	F	TTC	TTT					
Glicina	Gly	G	GGA	GGC	GGG	GGT			
Histidina	His	H	CAC	CAT					
Isoleucina	Ile	I	ATA	ATC	ATT				
Lisina	Lys	K	AAA	AAG					
Leucina	Leu	L	TTA	TTG	CTA	CTC	CTG	CTT	
Metionina	Met	M	ATG						
Asparagina	Asn	N	AAC	AAT					
Prolina	Pro	P	CCA	CCC	CCG	CCT			
Glutamina	Gln	Q	CAA	CAG					
Arginina	Arg	R	AGA	AGG	CGA	CGC	CGG	CGT	
Serina	Ser	S	AGC	AGT	TCA	TCC	TCG	TCT	
Treonina	Thr	T	ACA	ACC	ACG	ACT			
Valina	Val	V	GTA	GTC	GTG	GTT			
Triptófano	Trp	W	TGG						
Tirosina	Tyr	Y	TAC	TAT					

[0134] Las alteraciones de secuencia que no cambien la secuencia de aminoácidos codificada por el polinucleótido se denominan variaciones “silenciosas”. Con la excepción de los codones ATG y TGG, que codifican la metionina y el triptófano, respectivamente, cualquiera de los posibles codones para el mismo aminoácido se puede sustituir por una variedad de técnicas, por ejemplo, mutagénesis dirigida, disponible en la técnica. Por consiguiente, todas y cualquiera de dichas variaciones de una secuencia seleccionada de la tabla anterior son una característica de la invención.

[0135] Además de las variaciones silenciosas, se pueden hacer otras variaciones conservativas que alteran uno o algunos residuos de aminoácidos en el polipéptido codificado, sin alterar la función del polipéptido, y estas variantes conservativas son también una característica del documento.

[0136] Por ejemplo, también se prevén sustituciones, eliminaciones e inserciones introducidas en las secuencias proporcionadas en la Lista de Secuencias. Dichas modificaciones de secuencia se pueden diseñar en una secuencia mediante mutagénesis dirigida (Wu (ed.) *Methods Enzymol.* (1993) vol. 217, Academic Press) o por otros procedimientos indicados más adelante. Las sustituciones de aminoácidos normalmente son de residuos individuales; las inserciones normalmente serán del orden de aproximadamente de 1 a 10 residuos de aminoácidos; y las eliminaciones estarán en el intervalo de aproximadamente 1 a 30 restos. En realizaciones preferidas, las eliminaciones o inserciones se hacen en pares adyacentes, por ejemplo, una eliminación de dos residuos o inserción de dos restos. Se pueden combinar sustituciones, eliminaciones, inserciones o cualquier combinación de los mismos para llegar a una secuencia. Las mutaciones que se hacen en el polinucleótido que codifica el factor de transcripción no deben poner a la secuencia fuera del marco de lectura y no deben crear regiones complementarias que puedan producir una estructura de ARNm secundaria. Preferiblemente, el polipéptido codificado por el ADN realiza la función deseada.

[0137] Las sustituciones conservativas son aquellas en las que se ha eliminado por lo menos un residuo en la secuencia de aminoácidos y se ha insertado un residuo diferente en su lugar. Dichas sustituciones en general se hacen de acuerdo con la tabla 2 cuando se desea mantener la actividad de la proteína. La tabla 2 muestra los aminoácidos que se pueden sustituir por un aminoácido en una proteína y que se considera normalmente como sustituciones conservativas.

Tabla 2

Resto	Sustituciones conservativas
Ala	Ser
Arg	Lys
Asn	Gln; His
Asp	Glu
Gln	Asn
Cys	Ser
Glu	Asp
Gly	Pro
His	Asn; Gln
Ile	Leu, Val
Leu	Ile; Val
Lys	Arg; Gln
Met	Leu, Ile
Phe	Met; Leu; Tyr
Ser	Thr; Gly
Thr	Ser; Val
Trp	Tyr
Tyr	Trp; Phe
Val	Ile; Leu

[0138] Sustituciones similares son aquellas en las que por lo menos un residuo de la secuencia de aminoácidos se ha eliminado y se ha insertado en su lugar un residuo diferente. Dichas sustituciones en general se hacen de acuerdo con la tabla 3 cuando se desea mantener la actividad de la proteína. La tabla 3 muestra los aminoácidos que se pueden sustituir por un aminoácido en una proteína y que se consideran normalmente como sustituciones estructurales y funcionales. Por ejemplo, un residuo en la columna 1 de la tabla 3 se puede sustituir por un residuo en la columna 2; además, un residuo en la columna 2 de la tabla 3 se puede sustituir por el residuo de la columna 1.

Tabla 3

Resto	Sustituciones conservativas
Ala	Ser, Thr, Gly, Val, Leu, Ile
Arg	Lys, His, Gly
Asn	Gln, His, Gly, Ser, Thr
Asp	Glu, Ser, Thr
Gln	Asn, Ala
Cys	Ser, Gly
Gln	Asp
Gly	Pro, Arg
His	Asn, Gln, Tyr, Phe, Lys, Arg
Ile	Ala, Leu, Val, Gly, Met
Leu	Ala, Ile, Val, Gly, Met
Lys	Arg, His, Gln, Gly, Pro
Met	Leu, Ile, Phe
Phe	Met, Leu, Tyr, Trp, His, Val, Ala
Ser	Thr, Gly, Asp, Ala, Val, Ile, His
Thr	Ser, Val, Ala, Gly
Trp	Tyr, Phe, His
Tyr	Trp, Phe, His
Val	Ala, Ile, Leu, Gly, Thr, Ser, Glu

[0139] Se pueden seleccionar sustituciones que son menos conservativas que las de la tabla 2 escogiendo residuos que difieren de forma más significativa en su efecto en el mantenimiento de (a) la estructura de la cadena principal del polipéptido en la zona de la sustitución, por ejemplo, como una conformación de lámina o de hélice, (b) la carga o hidrofobicidad de la molécula en el sitio diana, o (c) el volumen de la cadena lateral. Las sustituciones que se espera que en general produzcan cambios más grandes en las propiedades de la proteína serán aquellas en las que (a) un residuo hidrofílico, por ejemplo, serilo o treonilo es sustituido por un residuo hidrofóbico, por ejemplo leucilo, isoleucilo, fenilalanilo, valilo o alanilo; (b) una cisteína o prolina es sustituida por cualquier otro resto; (c) un residuo que tiene una cadena lateral electropositiva, por ejemplo, lisilo, arginilo o histidilo es sustituido por un residuo electronegativo, por ejemplo, glutamilo o aspartilo; o (d) un residuo que tiene cadena lateral voluminosa, por ejemplo, fenilalanina, se sustituye por uno que no tiene una cadena lateral voluminosa, por ejemplo, glicina.

Modificación adicional de las secuencias - mutación/evolución forzada

[0140] Además de generar sustituciones silenciosas o conservativas como se ha indicado antes, la presente invención incluye opcionalmente procedimientos para modificar las secuencias de la lista de secuencias. En los procedimientos, se usan procedimientos de modificación de ácidos nucleicos o proteínas para alterar las secuencias dadas para producir más secuencias y/o para modificar química o enzimáticamente secuencias dadas para cambiar las propiedades de los ácidos nucleicos o proteínas.

[0141] Por lo tanto, en una realización, las secuencias de ácidos nucleicos dadas se modifican, por ejemplo, de acuerdo con la mutagénesis estándar o procedimientos de evolución artificial para producir secuencias modificadas. Las secuencias modificadas se pueden crear usando polinucleótidos naturales purificados aislados de cualquier organismo o se pueden sintetizar a partir de composiciones y productos químicos purificados usando medios

químicos bien conocidos para el experto en la materia. Por ejemplo, Ausubel, supra, proporciona detalles adicionales de los procedimientos de mutagénesis. Los procedimientos de evolución forzada artificial se describen, por ejemplo, en Stemmer (1994) *Nature* 370: 389-391, Stemmer (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 10747-10751, y patentes de EE.UU. 5.811.238, 5.837.500, y 6.242.568. Se describen procedimientos para diseñar factores de transcripción sintéticos y otros polipéptidos, por ejemplo, en Zhang y col. (2000) *J. Biol. Chem.* 275: 33850-33860, Liu y col. (2001) *J. Biol. Chem.* 276: 11323-11334, e Isalan y col. (2001) *Nature Biotechnol.* 19: 656-660. También están disponibles muchos otros procedimientos de mutación y de evolución y se basará en el criterio del experto.

[0142] Igualmente, se puede llevar a cabo la alteración química o enzimática de ácidos nucleicos expresados y polipéptidos mediante procedimientos estándar. Por ejemplo, una secuencia se puede modificar por adición de lípidos, azúcares, péptidos, compuestos orgánicos o inorgánicos, por la inclusión de nucleótidos o aminoácidos modificados, o similares. Por ejemplo, se ilustran técnicas de modificación de proteínas en Ausubel, supra. En el presente documento se pueden encontrar más detalles sobre las modificaciones químicas y enzimáticas. Estos procedimientos de modificación se pueden usar para modificar cualquier secuencia dada, o para modificar cualquier secuencia producida por los diferentes procedimientos de modificación por mutación y evolución artificial indicados en el presente documento.

[0143] Por consiguiente, el presente documento proporciona la modificación de cualquier ácido nucleico dado por mutación, evolución, modificación química o enzimática, u otros procedimientos disponibles, así como los productos producidos por la práctica de dichos procedimientos, por ejemplo, usando las secuencias del presente documento como un sustrato de partida para los diferentes procedimientos de modificación.

[0144] Por ejemplo, se puede usar una secuencia codificante optimizada que contiene codones preferidos por un hospedador procarionta o eucariota particular, por ejemplo, para aumentar la velocidad de traducción o para producir transcritos de ARN recombinante que tienen las propiedades deseadas, tales como una semivida más prolongada, comparado con los transcritos producidos usando una secuencia no optimizada. Los codones de parada de la traducción también se pueden modificar para reflejar la preferencia del hospedador. Por ejemplo, los codones de parada preferidos para *Saccharomyces cerevisiae* y mamíferos son TAA y TGA, respectivamente. El codón de parada preferido para las plantas monocotiledóneas es TGA, mientras que los insectos y *E. coli* prefieren usar TAA como codón de parada.

[0145] Las secuencias de polinucleótidos también se pueden diseñar con el fin de alterar una secuencia codificante por una variedad de razones, incluyendo, pero sin limitar, alteraciones que modifican la secuencia para facilitar la clonación, procesamiento y/o expresión del producto génico. Por ejemplo, se introducen opcionalmente alteraciones usando técnicas que son conocidas en la materia, por ejemplo mutagénesis dirigida, para insertar nuevos sitios de restricción, para alterar patrones de glicosilación, para cambiar preferencias de codones, para introducir sitios de corte y empalme, etc.

[0146] Además, un fragmento o dominio derivado de cualquiera de los polipéptidos se puede combinar con dominios derivados de otros factores de transcripción o dominios sintéticos para modificar la actividad biológica de un factor de transcripción. Por ejemplo, un dominio de unión al ADN derivado de un factor de transcripción se puede combinar con el dominio de activación de otro factor de transcripción o con un dominio de activación sintético. Un dominio de activación de la transcripción ayuda en el inicio de la transcripción a partir de un sitio de unión al ADN. Los ejemplos incluyen la región de activación de la transcripción de VP16 o GAL4 (Moore y col. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95: 376-381; Aoyama y col. (1995) *Plant Cell* 7: 1773-1785), péptidos derivados de secuencias bacterianas (Ma y Ptashne (1987) *Cell* 51: 113-119) y péptido sintéticos (Giniger y Ptashne (1987) *Nature* 330: 670-672).

Expresión y modificación de polipéptidos

[0147] Típicamente, las secuencias de polinucleótidos se incorporan en moléculas de ADN (o ARN) recombinantes que dirigen la expresión de polipéptidos en células hospedadoras adecuadas, plantas transgénicas, sistemas de traducción in vitro, o similares. Debido a la degeneración inherente del código genético, cualquier secuencia listada se puede sustituir por secuencias de ácidos nucleicos que codifican sustancialmente la misma secuencia de aminoácidos o una funcionalmente equivalente, para proporcionar la clonación y expresión del homólogo pertinente.

[0148] Las plantas transgénicas de la presente invención que comprenden secuencias de polinucleótidos recombinantes en general derivan de plantas parentales, que pueden ser ellas mismas plantas no transformadas (o no transgénicas). La sobreexpresión de plantas "progenie" transgénicas, presentarán mayores niveles de ARNm, en las que el ARNm codifica un factor de transcripción, es decir, una proteína de unión al ADN que es capaz de unirse a una secuencia reguladora de ADN y que incluye la transcripción, y preferiblemente, la expresión de un gen del rasgo de la planta. Preferiblemente, el nivel de expresión del ARNm será por lo menos 3 veces mayor que el de la planta parental, o más preferiblemente por lo menos 10 veces mayor que los niveles de ARNm comparados con dicha planta parental, y lo más preferiblemente por lo menos 50 veces mayor comparado con dicha planta parental.

Vectores, promotores y sistemas de expresión

5 [0149] El presente documento incluye construcciones recombinantes que comprenden una o más secuencias de ácidos nucleicos del presente documento. Las construcciones típicamente comprenden un vector, tal como un plásmido, un cósmido, un fago, un virus (por ejemplo un virus de planta), un cromosoma artificial bacteriano (BAC), un cromosoma artificial de levadura (YAC), o similares, en el que se habrá insertado una secuencia de ácido nucleico, en una orientación directa o inversa. En un aspecto preferido de esta realización, la construcción comprende además secuencias reguladoras, incluyendo, por ejemplo, un promotor operativamente unido a la secuencia. Los expertos en la materia conocen un gran número de vectores y promotores adecuados, y están disponibles en el comercio.

15 [0150] Los textos generales que describen técnicas de biología molecular útiles en el presente documento, incluyendo el uso y la producción de vectores, promotores y muchos otros temas relevantes, incluyen Berger, Sambrook, *supra* y Ausubel, *supra*. Cualquiera de las secuencias identificadas se puede incorporar en un casete o vector, por ejemplo, para la expresión en plantas. Se ha descrito una serie de vectores de expresión adecuados para la transformación estable de células de plantas o para el establecimiento de plantas transgénicas, incluyendo los descritos en Weissbach y Weissbach (1989) "Methods for Plant Molecular Biology" Academic Press, y Gelvin y col. (1990) "Plant Molecular Biology Manual", Kluwer Academic Publishers. Los ejemplos específicos incluyen los derivados de un plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens*, así como los descritos en Herrera- Estrella y col. (1983) *Nature* 303: 209, Bevan (1984) *Nucleic Acids Res.* 12: 8711-8721, Klee (1985) *Bio/Technology* 3: 637-642, para plantas dicotiledóneas.

25 [0151] Alternativamente, se pueden usar vectores no-Ti para transferir el ADN a plantas monocotiledóneas y células usando técnicas de suministro de ADN libre. Dichos procedimientos pueden implicar, por ejemplo, el uso de liposomas, electroporación, bombardeo de microproyectiles, filamentos de carburo de silicio y virus. Usando estos procedimientos se pueden producir plantas transgénicas tales como trigo, arroz (Gordon-Kamm (1990) *Plant Cell* 2: 603-618). Un embrión inmaduro también puede ser un buen tejido diana para monocotiledóneas para las técnicas de suministro directo de ADN usando la pistola de partículas (Weeks y col. (1993) *Plant Physiol.* 102: 1077-1084; Vasil (1993) *Bio/Technology* 10: 667-674; Wan y Lemeaux (1994) *Plant Physiol.* 104: 37-48, y para la transferencia de ADN mediada por *Agrobacterium* (Ishida y col. (1996) *Nature Biotechnol.* 14: 745-750).

35 [0152] Típicamente, los vectores de transformación de plantas incluyen una o más secuencias codificantes clonadas de la planta (genómicas o ADNc) bajo el control transcripcional de secuencias reguladoras 5' y 3' y un marcador seleccionable dominante. Dichos vectores de transformación de plantas típicamente contienen también un promotor (por ejemplo, una región reguladora que controla la expresión inducible o constitutiva, regulada por el medio ambiente o el desarrollo, específica de célula o tejido), un sitio de inicio de la transcripción, una señal de procesamiento del ARN (tal como sitios de corte y empalme, intrones), un sitio de terminación de la transcripción y/o una señal de poliadenilación.

40 [0153] Una utilidad potencial de los polinucleótidos de los factores de transcripción descritos en el presente documento es el aislamiento de elementos promotores de estos genes, que se pueden usar para programar la expresión en plantas de cualesquiera genes. Cada gen de factor de transcripción descrito en el presente documento se expresa de una forma única, determinada por los elementos promotores localizados en la dirección 5' del inicio de la traducción, y además dentro de un intrón del gen del factor de transcripción o en la dirección 3' del codón determinación del gen. Como se sabe en la técnica, para una parte significativa de los genes, las secuencias promotoras están situadas totalmente en la región directamente en la dirección 5' del inicio de la traducción. En dichos casos, típicamente las secuencias promotoras están situadas dentro de 2,0 kb del inicio de la traducción, o dentro de 1,5 kb del inicio de la traducción, con frecuencia dentro de 1,0 kb del inicio de la traducción, y a veces dentro de 0,5 kb del inicio de la traducción.

50 [0154] Las secuencias promotoras se pueden aislar de acuerdo con procedimientos conocidos para el experto en la materia.

55 [0155] Los ejemplos de promotores de plantas constitutivos que pueden ser útiles para expresar la secuencia de TF incluyen: el promotor 35S del virus del mosaico de la coliflor (CaMV), que confiere expresión de alto nivel constitutiva en la mayoría de los tejidos de plantas (véase, por ejemplo, Odell y col. (1985) *Nature* 313: 810-812); el promotor de la nopalina sintasa (An y col. (1988) *Plant Physiol.* 88: 547-552); y el promotor de la octopina sintasa (Fromm y col. (1989) *Plant Cell* 1: 977-984).

60 [0156] Se puede usar una variedad de promotores de genes de plantas que regulan la expresión de genes en respuesta a señales medioambientales, hormonales, químicas, de desarrollo, y de una forma activada por tejido, para la expresión de una secuencia de TF en plantas. La elección de un promotor se basa en gran medida en el fenotipo de interés y se determina por factores tales como el tejido (por ejemplo, semilla, fruta, raíz, polen, tejido vascular, flor, carpelo, etc.), capacidad de inducción (por ejemplo, en respuesta a heridas, calor, frío, sequía, luz, patógenos, etc.), el tiempo, la etapa de desarrollo, y similares. Se han caracterizado numerosos promotores conocidos y se pueden usar favorablemente para promover la expresión de un polinucleótido en una planta o célula

transgénica de interés. Por ejemplo, los promotores específicos de tejido incluyen: promotores específicos de semilla (tal como el promotor de napina, faseolina o DC3 descritos en la patente de EE.UU. nº 5.773.697), promotores específicos de fruto que son activos durante la maduración del fruto (tal como el promotor dru 1 (patente de EE.UU. nº 5.783.393), o el promotor 2A11 (patente de EE.UU. nº 4.943.674) y el promotor de la poligalacturonasa del tomate (Bird y col. (1988) *Plant Mol. Biol.* 11: 651-662), promotores específicos de raíz, tales como los descritos en las patentes de EE.UU. Nº 5.618.988, 5.837.848 y 5.905.186, promotores activos en el polen tales como PTA29, PTA26 y PTA13 (patente de EE.UU. nº 5.792.929), promotores activos en el tejido vascular (Ringli y Keller (1998) *Plant Mol. Biol.* 37: 977-988), específicos de flores (Kaiser y col. (1995) *Plant Mol. Biol.* 28: 231-243), polen (Baerson y col. (1994) *Plant Mol. Biol.* 26: 1947-1959), carpelos (Ohl y col. (1990) *Plant Cell* 2: 837-848), polen y óvulos (Baerson y col. (1993) *Plant Mol. Biol.* 22: 255-267), promotores inducibles por auxina (tales como los descritos en van der Kop y col. (1999) *Plant Mol. Biol.* 39: 979-990 o Baumann y col., (1999) *Plant Cell* 11: 323-334), promotor inducible por citoquinas (Guevara-García (1998) *Plant Mol. Biol.* 38: 743-753), promotores que responden a la giberelina (Shi y col. (1998) *Plant Mol. Biol.* 38: 1053-1060, Willmott y col. (1998) *Plant Molec. Biol.* 38: 817-825) y similares. Son promotores adicionales los que producen expresión en respuesta al calor (Ainley y col. (1993) *Plant Mol. Biol.* 22: 13-23), la luz (por ejemplo el promotor del guisante rbcS-3A, Kuhlemeier y col. (1989) *Plant Cell* 1: 471-478), y el promotor del maíz rbcS, Schaffner y Sheen (1991) *Plant Cell* 3: 997-1012); heridas (por ejemplo, *wun1*, Siebertz y col. (1989) *Plant Cell* 1: 961-968); patógenos (tales como el promotor PR-1 descrito en Buchel y col. (1999) *Plant Mol. Biol.* 40: 387-396, y el promotor PDF1.2 descrito en Manners y col. (1998) *Plant Mol. Biol.* 38: 1071-1080), y productos químicos tales como el jasmonato de metilo o ácido salicílico (Gatz (1997) *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 89-108). Además, el momento de la expresión se puede controlar usando promotores tales como los que actúan en la senescencia (Gan y Amasino (1995) *Science* 270: 1986-1988); o tarde en el desarrollo de la semilla (Odell y col. (1994) *Plant Physiol.* 106: 447-458).

[0157] Los vectores de expresión de plantas también pueden incluir señales de procesamiento del ARN que pueden estar situadas dentro, en dirección 5' o en dirección 3' de la secuencia codificante. Además, los vectores de expresión pueden incluir secuencias reguladoras adicionales a partir de la región 3' no traducida de genes de plantas, por ejemplo, una región 3' terminadora para aumentar la estabilidad del ARNm, tal como la región terminadora PI-II de la patata o las regiones 3' terminadoras de la octopino o nopalina sintasa.

Elementos de expresión adicionales

[0158] Las señales de inicio específicas pueden ayudar a la traducción eficaz de las secuencias codificantes. Estas señales pueden incluir, por ejemplo, el codón de inicio ATG y secuencias adyacentes. Pueden no ser necesarias señales de control de la traducción adicionales cuando se insertan una secuencia codificante, su codón de inicio y secuencias en la dirección 5' en el vector de expresión adecuado. Sin embargo, en los casos en los que sólo se inserta la secuencia codificante (por ejemplo, una secuencia codificante de proteína madura) o una parte de ella, se pueden proporcionar por separado señales de control de la transcripción exógenas incluyendo el codón de inicio ATG. El codón de inicio se proporciona en el marco de lectura correcto para facilitar la transcripción. Los elementos transcripcionales y codones de inicio exógenos pueden ser de diferentes orígenes, tanto natural como sintético. La eficacia de la expresión se puede potenciar por la inclusión de potenciadores adecuados para el sistema celular que se usa.

Hospedadores de expresión

[0159] La presente invención también se refiere a células hospedadoras que se transducen con vectores de la invención, y a la producción de polipéptidos (incluyendo fragmentos de los mismos) por técnicas recombinantes. Las células hospedadoras se transforman por ingeniería genética (es decir, se introducen ácidos nucleicos, por ejemplo, se transducen, transforman o transfectan), con los vectores de este documento, que pueden ser, por ejemplo, un vector de clonación o un vector de expresión que comprenden los ácidos nucleicos relevantes del presente documento. El vector es opcionalmente un plásmido, una partícula vírica, un fago, un ácido nucleico desnudo, etc. Las células hospedadoras transformadas por ingeniería genética se pueden cultivar en medios nutrientes convencionales modificados según sea adecuado para la activación de promotores, selección de transformantes o amplificación el gen relevante. Las condiciones de cultivo, tales como la temperatura, pH y similares, son las usadas previamente con la célula hospedadora seleccionada para la expresión, y serán evidentes para el experto en la materia y se encuentran en la referencias citadas en el presente documento, incluyendo, Sambrook, supra, y Ausubel, supra.

[0160] La célula hospedadora puede ser una célula eucariota, tal como una célula de levadura o una célula de planta, o la célula hospedadora puede ser una célula procariota, tal como una célula bacteriana. Los protoplastos de planta también son adecuados para algunas aplicaciones. Por ejemplo, se introducen fragmentos de ADN en tejidos de planta, células de plantas cultivadas o protoplastos de planta por procedimientos estándar, que incluyen la electroporación (Fromm y col. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82: 5824-5828), infección por vectores víricos tales como el virus del mosaico de la coliflor (CaMV) (Hohn y col., (1982) "Molecular Biology of Plant Tumors" Academic Press, Nueva York, NY, pág. 549-560; documento US 4.407.956), penetración balística de alta velocidad mediante partículas pequeñas con el ácido nucleico dentro de la matriz de perlas o partículas pequeñas o en la superficie (Klein y col. (1987) *Nature* 327: 70-73), uso de polen como vector (documento WO 85/01856), o uso de

Agrobacterium tumefaciens o *A. rhizogenes* que lleva un plásmido de ADN-T en el que se clona fragmentos de ADN. El plásmido ADN-T se transmite a las células de la planta por infección mediante *Agrobacterium tumefaciens*, y una parte se integra establemente en el genoma de la planta (Horsch y col. (1984) *Science* 233: 496-498; Fraley y col. (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 80: 4803-4807).

[0161] La célula puede incluir un ácido nucleico que codifica un polipéptido, en el que la célula expresa un polipéptido. La célula también puede incluir secuencias de vectores, o similares. Además, las células y plantas transgénicas que incluyen cualquier polipéptido o ácido nucleico anterior o a lo largo de esta memoria descriptiva, por ejemplo, producidos por transducción de un vector del presente documento, son una característica adicional.

[0162] Para la producción de alto rendimiento y a largo plazo de proteínas recombinantes, se puede usar la expresión estable. Las células hospedadoras transformadas con una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido se cultivan opcionalmente en condiciones adecuadas para la expresión y recuperación de la proteína codificada del cultivo celular. La proteína o fragmento de la misma producida por una célula recombinante puede ser secretada, estar unida a membrana, o contenida intracelularmente, dependiendo de la secuencia y/o el vector usados. Como entenderá el experto en la materia, los vectores de expresión que contienen polinucleótidos que codifican proteínas maduras, se pueden diseñar con secuencias señal que dirigen la secreción de los polipéptidos maduros a través de la membrana celular procariota o eucariota.

Residuos de aminoácidos modificados

[0163] Los polipéptidos pueden contener uno o más residuos de aminoácidos modificados. La presencia de aminoácidos modificados puede ser ventajosa, por ejemplo, para aumentar la semivida del polipéptido, reducir la antigenicidad o toxicidad del polipéptido, aumentar la estabilidad en el almacenamiento del polipéptido, o similares. El o los residuos de aminoácidos se modifican, por ejemplo, simultáneamente con la traducción o después de la traducción durante la producción recombinante o se modifican por medios sintéticos o químicos.

[0164] Los ejemplos no limitantes de un residuo de aminoácido modificado incluyen la incorporación u otro uso de aminoácidos acetilados, aminoácidos glicosilados, aminoácidos sulfatados, aminoácidos prenilados (por ejemplo, farnesilados, geranylgeranilados), aminoácidos modificados con PEG (por ejemplo, "PEGilados"), aminoácidos biotinizados, aminoácidos carboxilados, aminoácidos fosforilados, etc. La bibliografía está llena de referencias adecuadas para guiar al experto en la modificación de los residuos de aminoácidos.

[0165] Los residuos de aminoácidos modificados pueden prevenir o aumentar la afinidad del polipéptido por otra molécula, incluyendo, pero sin limitar, polinucleótido, proteínas, hidratos de carbono, lípidos y derivados de lípidos, y otros compuestos orgánicos o sintéticos.

Identificación de factores adicionales

[0166] Un factor de transcripción proporcionado por el presente documento también se puede usar para identificar moléculas endógenas o exógenas adicionales que pueden afectar al fenotipo o a un rasgo de interés. Por un lado, dichas moléculas incluyen compuestos orgánicos (moléculas pequeñas o grandes) y/o inorgánicos que afectan a la expresión de (es decir, regulan) un factor de transcripción particular. Alternativamente, dichas moléculas incluyen moléculas endógenas que actúan a un nivel transcripcional mediante un factor de transcripción para modificar un fenotipo como se desea. Por ejemplo, los factores de transcripción se pueden usar para identificar uno o más genes en la dirección 3' que se someten a un efecto regulador del factor de transcripción. En un procedimiento, un factor de transcripción u homólogo del factor de transcripción se expresa en una célula hospedadora, por ejemplo, una célula de planta transgénica, tejido o explante, y se hace el seguimiento de los productos de expresión, ARN o proteína, de dianas probables o aleatorias, por ejemplo, por hibridación con una micromatriz de sondas de ácidos nucleicos correspondientes a los genes expresados en un tejido o tipo de célula de interés, mediante electroforesis en gel bidimensional de los productos proteínicos, o por cualquier otro procedimiento conocido en la técnica para evaluar la expresión de productos génicos a nivel del ARN o proteína. Alternativamente, se puede usar un factor de transcripción para identificar secuencias promotoras (tales como sitios de unión en secuencias de ADN) implicadas en la regulación de una diana en la dirección 3'. Después de identificar una secuencia promotora, se pueden modificar las interacciones entre el factor de transcripción y la secuencia promotora mediante cambios en nucleótidos específicos en la secuencia promotora o aminoácidos específicos en el factor de transcripción que interacciona con la secuencia promotora, para alterar un rasgo de la planta. Típicamente, los sitios de unión al ADN de factores de transcripción se identifican mediante ensayos de desplazamiento en gel. Después de identificar las regiones promotoras, las secuencias de la región promotora se pueden usar en matrices de ADN de doble cadena para identificar moléculas que afectan a las interacciones de los factores de transcripción con sus promotores (Bulyk y col. (1999) *Nature Biotechnol.* 17: 573-577).

[0167] Los factores de transcripción identificados también son útiles para identificar proteínas que modifican la actividad del factor de transcripción. Dicha modificación se puede producir por modificación covalente, tal como por fosforilación o por interacciones de proteína-proteína (homo o heteropolímero). Se puede usar cualquier procedimiento adecuado para detectar interacciones de proteína-proteína. Entre los procedimientos que se pueden

usar están la inmunoprecipitación simultánea, entrecruzamiento y purificación simultánea a través de gradientes o columnas cromatográficas, y el sistema de doble híbrido en levaduras.

5 **[0168]** El sistema de doble híbrido detecta interacciones de proteínas in vivo y se describen en Chien y col. ((1991) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88: 9578-9582) y está disponible en el comercio en Clontech (Palo Alto, Calif.). En dicho sistema, se construyen plásmidos que codifican dos proteínas híbridas: una consiste en el dominio de unión al ADN de una proteína activadora de la transcripción fusionada con el polipéptido del TF y la otra consiste en el dominio de activación de la proteína activadora de la transcripción fusionado con una proteína desconocida que es codificada por un ADNc que se ha recombinado en el plásmido como parte de una biblioteca de ADNc. El plásmido de fusión del dominio de unión al ADN y la biblioteca de ADNc se transforman en una cepa de levaduras de *Saccharomyces cerevisiae* que contiene un gen indicador (por ejemplo, lacZ) cuya región reguladora contiene el sitio de unión al activador de la transcripción. Cualquiera de las proteínas híbridas sola no puede activar la transcripción del gen indicador. La interacción de las dos proteínas híbridas reconstituye la proteína activadora funcional y da como resultado de expresión del gen indicador, que se detecta mediante un ensayo para el producto del gen indicador. Después, los plásmidos de la biblioteca responsables de la expresión del gen indicador se aíslan y se secuencian para identificar las proteínas codificadas por los plásmidos de la biblioteca. Después de identificar las proteínas que interactúan con los factores de transcripción, se pueden llevar a cabo ensayos para los compuestos que interfieren con las interacciones de proteína-proteína del TF.

20 Identificación de moduladores

25 **[0169]** Además de las moléculas intracelulares descritas anteriormente, pueden identificarse moléculas extracelulares que alteran la actividad o la expresión de un factor de transcripción, ya sea directa o indirectamente. Por ejemplo, los procedimientos pueden implicar primero la puesta en contacto de una molécula candidata con una planta o una célula vegetal. Puede introducirse la molécula mediante administración tópica, como por pulverización o empapando la planta, o incubando una planta en una solución que contiene la molécula, y a continuación se monitoriza el efecto de la molécula en la expresión o la actividad del polipéptido de TF o la expresión del polinucleótido. Pueden monitorizarse los cambios en la expresión del polipéptido de TF mediante el uso de anticuerpos policlonales o monoclonales, electroforesis en gel o similares. Pueden detectarse cambios en la expresión de la secuencia de polinucleótidos correspondiente mediante el uso de microarrays, Northern, PCR cuantitativo, o cualquier otra técnica para monitorizar cambios en la expresión de ARNm. Se ejemplifican estas técnicas en Ausubel et al. (eds.) *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1998, y suplementos a lo largo de 2001). Pueden monitorizarse cambios en la actividad del factor de transcripción, directa o indirectamente, mediante el ensayo de la función del factor de transcripción, por ejemplo, mediante la medición de la expresión de promotores conocidos por estar controlados por el factor de transcripción (utilizando construcciones promotor-informador), la medición de los niveles de transcritos utilizando microarrays, transferencias Northern, PCR cuantitativa, etc. Pueden correlacionarse dichos cambios en los niveles de expresión con rasgos de plantas modificadas y de este modo las moléculas identificadas pueden ser útiles para empaparse o pulverizarse sobre el fruto, cultivos hortícolas y de grano para modificar los rasgos en las plantas.

40 **[0170]** Esencialmente puede analizarse cualquier composición disponible por la actividad moduladora de expresión o la actividad de cualquier ácido nucleico o polipéptido del presente documento. De este modo, pueden analizarse por la actividad moduladora las bibliotecas disponibles de compuestos, tales como compuestos químicos, polipéptidos, ácidos nucleicos y similares. Frecuentemente, pueden disolverse potenciales compuestos moduladores en soluciones acuosas u orgánicas (por ejemplo, de base DMSO) para liberar fácilmente en la célula o la planta de interés en el que se va a analizar la actividad del modulador. De modo opcional, se diseñan ensayos para cribar bibliotecas grandes de composiciones de moduladores mediante la automatización de las etapas del ensayo y la disposición en los ensayos de compuestos de cualquier origen conveniente, que típicamente se procesan en paralelo (por ejemplo, en formatos de microtitulación en placas de micrómetro en ensayos robóticos).

50 **[0171]** En una realización, los procesos de cribado de alto rendimiento implican proporcionar una biblioteca combinatoria que contiene un gran número de compuestos potenciales (compuestos moduladores potenciales). A continuación, se criban dichas "bibliotecas químicas combinatorias" en uno o más ensayos, tal y como se describe en la presente invención, para identificar aquellos miembros de la biblioteca (especie química concreta o subclases) que muestran una actividad característica deseada. Los compuestos identificados de este modo pueden servir como compuestos diana.

60 **[0172]** Una biblioteca química combinatoria puede ser, por ejemplo, una colección de diversos compuestos químicos generados mediante síntesis química o síntesis biológica. Por ejemplo, se forma una biblioteca química combinatoria, tal como por ejemplo una biblioteca de polipéptidos, mediante la combinación de un conjunto de bloques de construcción química (por ejemplo, en un ejemplo, aminoácidos) de cada manera posible para una longitud de compuesto determinada (es decir, el número de aminoácidos en un compuesto polipéptido de una longitud). Bibliotecas de ejemplo incluyen bibliotecas de péptidos, bibliotecas de ácidos nucleicos, bibliotecas de anticuerpos (ver, por ejemplo, Vaughn et al. (1996) *Nature Biotechnol.* 14: 309-314 y PCT/US96/10287), bibliotecas de carbohidratos (ver, por ejemplo, Liang et al. *Science* (1996) 274: 1520-1522 y Patente de Estados Unidos 5.593.853), bibliotecas de ácidos nucleicos de péptidos (ver, por ejemplo, Patente de Estados Unidos 5.539.083), y

bibliotecas de moléculas orgánicas pequeñas (ver, por ejemplo, benzodicepinas, en Baum Chem. & Engineering News Jan 18, 1993, página 33; isoprenoides, Patente de Estados Unidos 5.569.588; tiazolidinonas y metatiazanonas, Patente de Estados Unidos 5.549.974; pirrolidinas, Patentes de Estados Unidos 5.525.735 y 5.519.134; compuestos de morfolino, Patente de Estados Unidos 5.506.337) y similares.

[0173] La preparación y el cribado de bibliotecas combinatorias u otras bibliotecas son bien conocidas por los expertos en la materia. Dichas bibliotecas químicas combinatorias incluyen, pero sin limitación, bibliotecas de péptido (ver, por ejemplo, Patente de Estados Unidos 5.010.175; Furka, (1991) Int. J. Pept. Prot. Res. 37: 487-493; y Houghton et al. (1991) Nature 354: 84-88). También pueden utilizarse otras químicas para generar bibliotecas de diversidad química.

[0174] Además, tal y como se indica, el equipo de cribado de compuestos para un cribado de alto rendimiento está generalmente disponible, por ejemplo, utilizando cualquiera de un conjunto de sistemas robóticos bien conocidos que también se han desarrollado para químicas de fase en solución útiles en sistemas de ensayo. Estos sistemas incluyen estaciones de trabajo automatizadas que incluyen un aparato de síntesis automatizado y sistema robóticos que utilizan brazos robóticos. Cualquiera de los dispositivos anteriores es adecuado para utilizar con este aspecto de la memoria, por ejemplo, para el cribado de alto rendimiento de potenciales moduladores. La naturaleza y la implementación de las modificaciones a estos dispositivos (si las hubiera) de manera que pudieran operar tal y como se describe en la presente invención serán evidentes para los expertos en la materia pertinente.

[0175] De hecho, están disponibles comercialmente sistemas completos de cribado alto rendimiento. Estos sistemas automatizan típicamente procedimientos completos que incluyen todo el pipeteo de muestra y reactivo, la dispensación de líquido, las incubaciones con el tiempo, y las lecturas finales de la microplaca en el detector o detectores apropiados para el ensayo. Estos sistemas configurables proporcionan un alto rendimiento y un inicio rápido además de un alto grado de flexibilidad y personalización. De modo similar, también están disponibles comercialmente las implementaciones microfluídicas de cribado.

[0176] Los fabricantes de dichos sistemas proporcionan protocolos detallados de los diversos sistemas de cribado de alto rendimiento. De este modo, por ejemplo, Zymark Corp. proporciona boletines técnicos que describen los sistemas de cribado para detectar la modulación de la transcripción génica, la unión a ligando, y similares. Los sistemas integrados en la presente invención, además de proporcionar una alineación de secuencias y, opcionalmente, la síntesis de ácidos nucleicos relevantes, pueden incluir dicho aparato de cribado para identificar moduladores que tienen un efecto sobre uno o más polinucleótidos o polipéptidos descritos aquí.

[0177] En algunos ensayos es deseable tener controles positivos para asegurar que los componentes de los ensayos estén trabajando correctamente. Son apropiados por lo menos dos tipos de controles positivos. Es decir, pueden incubarse activadores o inhibidores transcripcionales conocidos con células o plantas, por ejemplo, en una muestra del ensayo, y puede detectarse el aumento/disminución resultante en la transcripción mediante la medición del incremento resultante en niveles de ARN y/o la expresión de proteína, por ejemplo, según los procedimientos del presente documento. Se entenderá que los moduladores también pueden combinarse con activadores o inhibidores transcripcionales para descubrir moduladores que inhiban la activación transcripcional o la represión transcripcional. Pueden monitorizarse la expresión de los ácidos nucleicos y las proteínas del presente documento o cualquier ácido nucleico o proteína adicional activado por los ácidos nucleicos o proteínas del presente documento, o ambos.

[0178] En una realización, la presente memoria establece un procedimiento para identificar composiciones que modulan la actividad o la expresión de un polinucleótido o polipéptido de la memoria. Por ejemplo, se pone en contacto un compuesto de análisis, ya sea una molécula pequeña o grande, con una célula, planta (o tejido vegetal o explante), o una composición que comprende el polinucleótido o el polipéptido de interés y se evalúa el efecto resultante sobre la célula, planta, (o tejido o explante) o composición mediante la monitorización, ya sea directamente o indirectamente, de uno o más de: nivel de expresión del polinucleótido o polipéptido, actividad (o modulación de la actividad) del polinucleótido o polipéptido. En algunos casos, puede detectarse una alteración en un fenotipo de la planta después del contacto de una planta (o célula vegetal, o tejido o explante) con el posible modulador, por ejemplo, mediante la modulación de la expresión o la actividad de un polinucleótido o un polipéptido. La modulación de la expresión o la actividad de un polinucleótido o un polipéptido también puede estar causada por elementos moleculares en una ruta de transducción de señal con segundo mensajero y dicha modulación puede afectar a elementos similares en la misma u otra ruta de de transducción de señal con segundo mensajero.

Subsecuencias

[0179] También se describen en este documento usos de los polinucleótidos, denominados también en el presente documento como oligonucleótidos, que típicamente tienen por lo menos 12, preferiblemente por lo menos 15, más preferiblemente por lo menos 20, 30 ó 50 bases, que hibridan bajo condiciones por lo menos altamente rigurosas (o condiciones rigurosas ultraelevadas o ultraultraelevadas) con una secuencia de polinucleótido descrita antes. Los polinucleótidos se pueden usar como sondas, cebadores, agentes de sentido directo y sentido contrario, y similares, de acuerdo con los procedimientos indicados antes.

[0180] Las subsecuencias de los polinucleótidos, incluyendo fragmentos de polinucleótido y oligonucleótidos, son útiles como sondas de ácidos nucleicos y cebadores. Un oligonucleótido adecuado para usar como sonda o cebador tiene por lo menos aproximadamente 15 nucleótidos de longitud, más a menudo por lo menos aproximadamente 18 nucleótidos, a menudo por lo menos aproximadamente 21 nucleótidos, con frecuencia por lo menos aproximadamente 30 nucleótidos, o aproximadamente 40 nucleótidos, o más de longitud. Una sonda de ácido nucleico es útil en protocolos de hibridación, por ejemplo, para identificar homólogos de polipéptidos adicionales, incluyendo protocolos para experimentos de micromatrices. Los cebadores se pueden volver a asociar con una cadena de ADN diana complementaria mediante hibridación de ácido nucleico para formar un híbrido entre el cebador y la cadena de ADN diana, y después extender a lo largo de la cadena de ADN diana mediante una enzima ADN polimerasa. Se pueden usar parejas de cebadores para la amplificación de una secuencia de ácido nucleico, por ejemplo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) u otros procedimientos de amplificación de ácidos nucleicos. Véase Sambrook, *supra* y Ausubel, *supra*.

[0181] Además, se describe en este documento un polipéptido aislado o recombinante que incluye una subsecuencia de por lo menos aproximadamente 15 aminoácidos contiguos codificados por los polinucleótidos recombinantes o aislados. Por ejemplo, dichos polipéptidos, o dominios o fragmentos de los mismos, se pueden usar como inmunógenos, por ejemplo, para producir anticuerpos específicos para la secuencia de polipéptido, o como sondas para detectar una secuencia de interés. El tamaño de una subsecuencia puede estar en el intervalo de aproximadamente 15 aminoácidos de longitud hasta e incluyendo la longitud completa del polipéptido.

[0182] Un polipéptido expresado que comprende dicha subsecuencia de polipéptido realiza por lo menos una función biológica del polipéptido intacto sustancialmente de la misma forma, o en una extensión similar, a como lo hace el polipéptido intacto. Por ejemplo, un fragmento de polipéptido puede comprender un patrón estructural reconocible o dominio funcional tal como un dominio de unión al ADN que activa la transcripción, por ejemplo, mediante unión a una región promotora de ADN específica de un dominio de activación, o un dominio para interacciones de proteína-proteína.

Producción de plantas transgénicas

Modificación de rasgos

[0183] Los polinucleótidos de la memoria se usan de forma favorable para producir plantas transgénicas con diferentes rasgos o características que se han modificado de una forma conveniente, por ejemplo, para mejorar las características de las semillas de una planta. Por ejemplo, la alteración de los niveles o patrones de expresión (por ejemplo, patrones de expresión espacial o temporal) de uno o más de los factores de transcripción (u homólogos de factores de transcripción), comparado con los niveles de la misma proteína encontrados en una planta tipo salvaje, se puede usar para modificar rasgos de una planta. Un ejemplo ilustrativo de la modificación de rasgos, características mejoradas, mediante la alteración de los niveles de expresión de un factor de transcripción particular se describe a continuación en los ejemplos y la lista de secuencias.

Arabidopsis como un sistema modelo

[0184] *Arabidopsis thaliana* es objeto de una atención que crece rápidamente como un modelo para la genética y el metabolismo en plantas. *Arabidopsis* tiene un genoma pequeño y están disponibles estudios bien documentados. Es fácil cultivarla en grandes cantidades y están disponibles mutantes que definen mecanismos genéticamente controlados importantes, o se pueden obtener fácilmente. Están disponibles diferentes procedimientos para introducir y expresar genes homólogos aislados (véase Koncz y col., eds., "Methods in Arabidopsis Research" (1992) World Scientific, Nueva Jersey, NJ, en "Prólogo"). Debido a su pequeño tamaño, ciclo de vida corto, autogamia obligada y alta fertilidad, *Arabidopsis* también es un organismo de elección para el aislamiento de mutantes y estudios en rutas morfogénicas y de desarrollo, y el control de estas rutas por factores de transcripción (Koncz (1992), *supra*, pág. 72). Una serie de estudios que introducen factores de transcripción en *A. thaliana* han demostrado la utilidad de esta planta para la comprensión de los mecanismos de regulación de genes y alteración de rasgos en plantas. (Véase, por ejemplo, en Koncz (1992) *supra*, y en la patente de EE.UU. n° 6.417.428).

Genes homólogos introducidos en plantas transgénicas

[0185] Se pueden introducir en plantas genes homólogos que se pueden obtener de cualquier planta, o de cualquier fuente sea natural, sintética o semisintética o recombinante, y que comparte una identidad o similitud de secuencia significativa con las proporcionadas aquí, por ejemplo, en plantas cultivadas, para conferir los rasgos mejorados o deseados. Por consiguiente, se pueden producir plantas transgénicas que comprenden un vector o casete de expresión recombinante con un promotor operativamente unido a una o más secuencias homólogas con las presentes secuencias descritas. El promotor puede ser, por ejemplo, un promotor de planta o vírico.

[0186] La invención proporciona, por lo tanto, procedimientos para preparar plantas transgénicas y para modificar rasgos de las plantas tal como se define en las reivindicaciones. Estos procedimientos incluyen introducir en una planta un vector o casete de expresión recombinante que comprende un promotor funcional operativamente unido a

una o más secuencias homólogas con las presentes secuencias descritas. Las plantas y los kits para producir estas plantas que resultan de la aplicación de estos procedimientos también están incluidos en la presente invención.

Factores de transcripción de interés para la modificación de rasgos de plantas

[0187] Actualmente, la existencia de una serie de grupos de maduración para diferentes latitudes representa una barrera importante para la producción de nuevos rasgos valiosos. Cualquier rasgo (por ejemplo, resistencia a una enfermedad) debe cultivarse en cada uno de los diferentes grupos de maduración por separado, un ejercicio laborioso y costoso. Por lo tanto, la disponibilidad de una sola cepa, que podría cultivarse a cualquier latitud, aumentaría mucho el potencial para introducir nuevos rasgos en especies de cultivo tales como la soja y el algodón.

[0188] Para muchos de los efectos, rasgos y utilidades específicos indicados en la tabla 4 y la tabla 6 que pueden ser conferidos a las plantas, se puede usar uno o más de los genes de los factores de transcripción, para aumentar o disminuir, avanzar o retrasar, o mejorar o perjudicar para un rasgo determinado. Se puede introducir más de un gen de factor de transcripción en una planta, transformando la planta con uno o más vectores que comprenden dos o más factores de transcripción, o mediante cultivo selectivo de plantas para dar cruces de híbridos que comprenden más de un factor de transcripción introducido.

[0189] En la Tabla 4 se proporciona una lista de efectos específicos y utilidades que los genes de factores de transcripción descritos en la presente invención tienen sobre las plantas, tal y como se determinan mediante la observación directa y el análisis de ensayo. La Tabla 4 muestra los polinucleótidos identificados mediante SEQ ID N°; N° ID Gen (GID); y si se analizó el polinucleótido en un ensayo transgénico. La primera columna muestra la SEQ ID N° del polinucleótido; la segunda columna muestra el GID; la tercera columna muestra si el gen se sobreexpresó (OE) o inactivó (knocked out) (KO) en los estudios de plantas; la cuarta columna muestra la categoría de rasgo modificado resultante del knock out o la sobreexpresión del polinucleótido en la planta transgénica; y la quinta columna ("Observaciones experimentales"), incluye observaciones específicas hechas con respecto al polinucleótido de la primera columna respectiva.

Tabla 4. Rasgos, categorías de rasgos, y efectos y utilidades que tienen los genes de factores de transcripción sobre las plantas.

SEQ ID N°:	GID	OE/K O	Categoría	Observaciones experimentales
327	G198 8	OE	Nutriente; Tolerancia a N bajo Nutriente; tolerancia a PO ₄ bajo Tiempo de floración Respuesta a luz; pecíolo largo; hipocótilo largo	Mejor crecimiento en N bajo más glutamina, mejor crecimiento en fosfato bajo; hipocótilo largo, pecíolo largo, floración temprana

[0190] La tabla 5 muestra los polipéptidos identificados por SEQ ID N°; N° de ID de Gen (GID); la familia de factores de transcripción a la que pertenece el polipéptido, y dominios conservados del polipéptido. La primera columna muestra la SEQ ID N° del polipéptido; la tercera columna muestra la familia de factores de transcripción a la que pertenece el polipéptido; y la cuarta columna muestra las posiciones de residuos de aminoácidos del dominio conservado en coordenadas de aminoácidos (AA).

Tabla 5. Familias génicas y dominios conservados

Polipéptido SEQ ID N°:	GID N°	Familia	Dominios conservados en coordenadas de aminoácidos
328	G188	5-50	Tipo Z-CO

[0191] En la Tabla 6 se listan ejemplos de algunas de las utilidades que pueden ser deseables en plantas, y que pueden proporcionarse mediante la transformación de las plantas con las secuencias aquí descritas. Muchos de los factores de la transcripción listados en la Tabla 6 pueden unirse operativamente con un promotor específico que provoca que se exprese el factor de transcripción en respuesta a señales medioambientales, específicas de tejido o temporales. Para ejemplos de otros promotores específicos de tejido, específicos temporales o inducibles, ver la discusión anterior bajo el título "Vectores, promotores, y sistemas de expresión".

Tabla 6. Genes, rasgos y utilidades que afectan a las características de la planta

Categoría de rasgo	Alteración o alteraciones fenotípicas	Genes de factores de transcripción que afectan en los rasgos	Utilidad
Estrés abiótico	Estrés de nitrógeno Menos sensible a	G1988	Producción y tolerancia a estrés de nutriente

	limitación de N		aumentados, utilización de fertilizante disminuida
	Estrés de fosfato Menos sensible a limitación de PO ₄	G1988	Producción y tolerancia a estrés de nutriente aumentados, utilización de fertilizante disminuida
Regulador de crecimiento	Sensibilidad a C/N alterada	G1988	Alteración o control de división asimilada
Tiempo de floración	Floración temprana	G1988	Tiempo de generación más rápido; sincronía de floración; cosechas adicionales dentro de una estación de crecimiento, acortamiento de programas de reproducción
Desarrollo y morfología	Forma, color y desarrollo de hipocótilo alterados	G1988	Aplicaciones ornamentales; respuesta a luz alterada (ver "Respuesta a luz" más adelante)
Respuesta a luz/ evitar sombra	Hipocótilo alterado	G1988	Densidades de plantación incrementadas y aumento de la producción
	Pecíolo alterado	G1988	
Abreviaturas: N=nitrógeno, P=fosfato ABA=ácido abscísico C/N=equilibrio carbono/nitrógeno			

Descripción detallada de genes, rasgos y utilidades que afectan a las características de la planta

5 **[0192]** Las siguientes descripciones de rasgos y utilidades asociadas con los presentes factores de transcripción ofrecen una descripción más exhaustiva que la proporcionada en la Tabla 6.

Estrés abiótico, consideraciones generales

10 **[0193]** Los factores de transcripción de la planta puede modular la expresión de genes, y a su vez, ser modulados por la experiencia medioambiental de la planta. Las alteraciones significativas del entorno de una planta producen de forma invariable un cambio en el patrón de expresión de los genes de los factores de transcripción de la planta. Los patrones de expresión de los factores de transcripción alterados en general dan como resultado cambios fenotípicos en la planta. El o los productos génicos de factores de transcripción en las plantas transgénicas difieren entonces en las cantidades o proporciones de las encontradas en las plantas tipo salvaje o no transformadas, y es probable que
15 estos factores de transcripción representen polipéptidos que son usados para alterar la respuesta al cambio medioambiental. A modo de ejemplo, está aceptado en la técnica que los procedimientos analíticos basados en patrones de expresión alterados se pueden usar para cribar cambios fenotípicos en una planta de forma mucho más eficaz que la lograda usando procedimientos tradicionales.

20 **[0194]** Captación y utilización de nutrientes: nitrógeno y fósforo: Los genes de factores de transcripción aquí descritos introducidos en plantas proporcionan un medio para mejorar la captación de nutrientes esenciales, incluyendo compuestos de nitrógeno, fosfatos, potasio y minerales en traza. El mejor rendimiento de, por ejemplo, G1988, y otras líneas sobreexpresantes bajo condiciones de nitrógeno bajo o G1988, bajo condiciones de fósforo bajo, indican que estos genes y sus homólogos se podrían utilizar para diseñar cultivos que podrían crecer bajo
25 condiciones de disponibilidad reducida de nutrientes. El fósforo, en particular, tiende a ser un nutriente limitante en tierras y en general se añade como componente en fertilizantes. Las plantas jóvenes presentan una rápida captación de fosfato y un fosfato suficiente es importante para la producción de cultivos de raíces, tales como zanahoria, patata y chirivía.

30 **[0195]** El efecto de estas modificaciones es incrementar la germinación del semillero y la gama de plantas ornamentales y cultivos. Las utilidades de genes de factores de transcripción descritos aquí que confieren tolerancia

a las condiciones de nutrientes bajos también incluyen una reducción de costes para el cultivador mediante la reducción de fertilizante necesario, ventajas medioambientales de fertilizante reducido añadido en la cuenca; y producción y tolerancia al estrés mejoradas. Además, al proporcionar una mejor capacidad de captación de nitrógeno, estos genes se pueden utilizar para alterar las cantidades de proteínas y/o la composición de la semilla, de manera que podría afectar en la producción, así como el valor nutricional y producción de varios productos alimenticios.

[0196] Regulador del crecimiento: equilibrio de carbono y nitrógeno. Se puede utilizar un conjunto de las líneas que sobreexpresan factores de transcripción, incluyendo G1988, para producir plantas con una sensibilidad C/N alterada. Estas plantas pueden por ejemplo, fabricar menos antocianina en sacarosa elevada más glutamina, indicando que estos genes se pueden utilizar para modificar el estado del carbono y el nitrógeno, y, de este modo, asimilar la separación (asimilar la separación se refiere a la manera en que un elemento esencial, tal como nitrógeno, se distribuye entre los diferentes grupos en una planta, en general en una forma reducida, para el objetivo de transportarse a varios tejidos).

[0197] Tiempo de floración: floración temprana y tardía. Los genes de factores de transcripción aquí descritos que aceleran la floración, podrían tener aplicaciones valiosas en dichos programas, ya que permiten tiempos de generación mucho más rápidos. En un conjunto de especies, por ejemplo, brócoli, coliflor, donde las partes reproductoras de las plantas constituyen el cultivo y se descartan los tejidos vegetativos, sería ventajoso acelerar el tiempo hasta la floración. La aceleración de la floración podría acortar los programas de desarrollo de cultivo y árboles. Adicionalmente, en algunos casos, un tiempo de generación más rápido permitiría cosechas adicionales de un cultivo a realizar en una temporada de crecimiento determinada. Un conjunto de genes de Arabidopsis ya han mostrado que aceleran la floración cuando se expresan de forma constitutiva. Estos incluyen LEAFY, APETALA1 y CONSTANS (Mandel et al. (1995) Nature 377: 522-524; Weigel and Nilsson (1995) Nature 377: 495-500; Simon et al. (1996) Nature 384: 59-62).

[0198] Mediante la regulación de la expresión de la potencial floración utilizando promotores inducibles, la floración se podría desencadenar mediante la aplicación de un producto químico inductor. Esto permitiría que la floración se sincronizara a lo largo del cultivo y facilitara una cosecha más eficaz. Actualmente, están disponibles especies, tales como soja y algodón, como una serie de grupos de madurez que son adecuados para diferentes latitudes en base a su tiempo de floración (que está gobernado por la longitud del día). Un sistema en que la floración podría controlarse químicamente permitiría que un grupo de madurez del norte con alta producción creciera en cualquier latitud. En regiones del sur, dichas plantas podrían crecer durante periodos más largos antes de inducir la floración, incrementando así las producciones. En áreas más norteñas, la inducción se utilizaría para asegurar que el cultivo florece antes de las primeras heladas de invierno.

[0199] Los factores de transcripción descritos aquí que alargan el tiempo de floración son útiles en el diseño de plantas con flores más duraderas para la industria hortícola y para alargar el tiempo en que la planta es fértil.

[0200] Desarrollo y morfología: cotiledón, hipocótilo. Los fenotipos morfológicos mostrados por plantas que sobreexpresan varios de los genes de factores de transcripción de la tabla 6 indican que estos genes, incluyendo aquellos que producen hipocótilos alterados (G1988), se pueden utilizar para manipular respuestas a la luz, tales como evitando la sombra. Dado que estos genes también alteran la arquitectura de la planta, pueden ser útiles en la industria de horticultura ornamental.

[0201] Respuesta a la luz/evitar sombras: cotiledón alterado, hipocótilo, desarrollo del peciolo, orientación de la hoja alterada, fotomorfogénesis constitutiva, fotomorfogénesis en luz baja. Los genes de factores de transcripción aquí descritos, incluyendo G1988, y sus equivalentes que pueden modificar la respuesta de una planta a la luz pueden ser útiles para modificar el crecimiento o desarrollo de la planta, por ejemplo, fotomorfogénesis en luz escasa, o aceleración del tiempo de floración en respuesta a varias intensidades de luz, calidad o duración a la que una planta no transformada no respondería de forma similar. Ejemplos de dichas respuestas que se han demostrado incluyen el número y la disposición de las hojas, y aparición temprana de capullos de flor. La eliminación de las respuestas a la sombra puede conducir a una mayor densidad de plantación con el consecuente aumento de la producción. Dado que estos genes pueden alterar también la arquitectura de la planta, pueden ser útiles en la industria de la horticultura ornamental.

Sentido contrario y supresión simultánea

[0202] Además de la expresión de los ácidos nucleicos de la invención como sustitución de genes o ácidos nucleicos modificadores del fenotipo de la planta, los ácidos nucleicos también son útiles para la supresión de la expresión en sentido directo y sentido contrario, por ejemplo, para reducir la expresión de un ácido nucleico de la memoria, por ejemplo, como un mecanismo adicional para modular el fenotipo de la planta. Es decir, los ácidos nucleicos de la invención, o subsecuencias o secuencias de sentido contrario de las mismas, se pueden usar para bloquear la expresión de ácidos nucleicos homólogos naturales. Se conocen en la técnica una variedad de tecnologías de sentido directo o sentido contrario, por ejemplo, como se expone en Lichtenstein y Nellen (1997) "Antisense Technology: A Practical Approach", IRL Press at Oxford University Press, Oxford, Reino Unido. La

regulación de sentido contrario también se describe en Crowley y col. (1985) *Cell* 43: 633-641; Rosenberg y col. (1985) *Nature* 313: 703-706; Preiss y col. (1985) *Nature* 313: 27-32; Melton (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82:144-148; Izant y Weintraub (1985) *Science* 229: 345-352; y Kim y Wold (1985) *Cell* 42:129-138. Se conocen procedimientos adicionales de regulación de sentido contrario en la técnica. La regulación de sentido contrario se ha usado para reducir o inhibir la expresión de genes de plantas, por ejemplo, en la publicación de patente europea nº 271988. El ARN de sentido contrario se puede usar para reducir la expresión de genes para producir un cambio fenotípico visible o bioquímico en la planta (Smith y col. (1988) *Nature*, 334: 724-726; Smith y col. (1990) *Plant Mol. Biol.* 14: 369-379). En general, las secuencias de sentido directo o sentido contrario se introducen en la célula donde son opcionalmente amplificadas, por ejemplo, por transcripción. Dichas secuencias incluyen tanto secuencias de oligonucleótidos sencillas como secuencias catalíticas tales como ribozimas.

[0203] Por ejemplo, una reducción o eliminación de la expresión (es decir, una "inactivación") de un factor de transcripción o polipéptido homólogo del factor de transcripción en una planta transgénica, por ejemplo, para modificar un rasgo de la planta, se puede obtener introduciendo una construcción de sentido contrario correspondiente al polipéptidos de interés como un ADNc. Para la supresión de sentido contrario, el ADNc del factor de transcripción u homólogo se dispone en orientación contraria (con respecto a la secuencia codificante) con respecto a la secuencia del promotor en el vector de expresión. No es necesario que la secuencia introducida sea el ADNc o gen de longitud completa, y no es necesario que sea idéntica al ADNc o gen que se encuentra en el tipo de planta que se va a transformar. Típicamente, solo es necesario que la secuencia de sentido contrario sea capaz de hibridar con el gen o ARN diana de interés. Por lo tanto, cuando la secuencia introducida es de menor longitud, será necesario un mayor grado de homología con la secuencia del factor de transcripción endógeno para la supresión de sentido contrario eficaz. Aunque se pueden usar secuencias de sentido contrario de diferentes longitudes, preferiblemente, la secuencia de sentido contrario introducida en el vector será de por lo menos 30 nucleótidos de longitud, y típicamente se observará una mejor supresión de sentido contrario al aumentar la longitud de la secuencia de sentido contrario. Preferiblemente, la longitud de la secuencia de sentido contrario en el vector tendrá más de 100 nucleótidos. La transcripción de una construcción de sentido contrario como se describe, da como resultado la producción de moléculas de ARN que son el complemento inverso de las moléculas de ARNm transcritas a partir del gen del factor de transcripción endógeno en la célula de la planta.

[0204] La supresión de la expresión del gen del factor de transcripción endógeno también se puede lograr usando la interferencia de ARN, o ARNi. La ARNi es una técnica de silenciamiento de genes dirigida, postranscripcional, que usa ARN bicatenario (ARNdc) para incitar la degradación del ARN mensajero (ARNm) que contiene la misma secuencia que el ARNdc (Constans, (2002) *The Scientist* 16:36). Los ARN interferentes pequeños, o ARNip, se producen en por lo menos 2 etapas: una ribonucleasa endógena escinde el ARNdc más largo en ARN más cortos de 21-23 nucleótidos de longitud. Los segmentos de ARNip median entonces la degradación del ARNm diana (Zamore, (2001) *Nature Struct. Biol.*, 8:746-50). La ARNi se ha usado para la determinación de la función de genes de una forma similar a los oligonucleótidos de sentido contrario (Constans, (2002) *The Scientist* 16:36). Los vectores de expresión que expresan continuamente ARNip en células transfectadas transitoria y establemente se han diseñado para expresar ARN en horquilla pequeños (ARNhp), que son procesados in vivo en moléculas de tipo ARNip capaces de llevar a cabo el silenciamiento específico de genes (Brummelkamp y col., (2002) *Science* 296:550-553, y Paddison, y col. (2002) *Genes & Dev.* 16:948-958). El silenciamiento de genes postranscripcionales por el ARN bicatenario se discute con más detalle en Hammond y col. (2001) *Nature Rev Gen* 2: 110-119, Fire et, al. (1998) *Nature* 391: 806-811 y Timmons y Fire (1998) *Nature* 395: 854. Los vectores en las que el ARN codificado por un ADNc de factor de transcripción u homólogo del factor de transcripción es expresado en exceso, también se pueden usar para obtener la supresión simultánea de un gen endógeno correspondiente, por ejemplo de la forma descrita en la patente de EE.UU. nº 5.231.020 de Jorgensen. Dicha supresión simultánea (denominada también supresión de sentido contrario), no requiere que se introduzca el ADNc del factor de transcripción entero en las células de la planta, ni requiere que la secuencia introducida sea exactamente igual al gen del factor de transcripción endógeno de interés. Sin embargo, como con la supresión de sentido contrario, la eficacia de la supresión aumentará al aumentar la especificidad de la hibridación, por ejemplo, cuando la secuencia introducida se alarga y/o se aumenta la similitud de secuencia entre la secuencia introducida y el gen del factor de transcripción endógeno.

[0205] Los vectores que expresan una forma no traducible del ARNm del factor de transcripción (por ejemplo, secuencias que comprenden uno o más codones de parada o mutaciones sin sentido) también se pueden usar para suprimir la expresión de un factor de transcripción endógeno, reduciendo o eliminando así su actividad y modificando uno o más rasgos. Se describen procedimientos para producir dichas construcciones en la patente de EE.UU. nº 5.583.021. Preferiblemente, dichas construcciones se hacen introduciendo un codón de parada prematuro en el gen del factor de transcripción. Alternativamente, se puede modificar un rasgo de la planta mediante el silenciamiento de genes usando ARN de doble cadena (Sharp (1999) *Genes and Development* 13: 139-141). Otro procedimiento para abolir la expresión de un gen es mediante inserción de mutagénesis usando el ADN-T de *Agrobacterium tumefaciens*. Después de generar los mutantes de inserción, los mutantes se pueden cribar para identificar aquellos que contienen la inserción en un gen del factor de transcripción u homólogo del factor de transcripción. Las plantas que contienen un solo suceso de inserción de transgén en el gen deseado se pueden cruzar para generar plantas homocigotas para la mutación. Dichos procedimientos son bien conocidos para el experto en la materia (por ejemplo, en Koncz y col. (1992) "Methods in Arabidopsis Research". World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., River Edge, NJ).

[0206] Alternativamente, el fenotipo de una planta se puede alterar eliminando un gen endógeno, tal como un factor de transcripción u homólogo del factor de transcripción, por ejemplo, mediante recombinación homóloga (Kempin y col. (1997) *Nature* 389: 802-803).

[0207] Un rasgo de una planta también se puede modificar usando el sistema Cre-lox (por ejemplo, como se describe en la patente de EE.UU. nº 5.658.772). Se puede modificar el genoma de una planta para incluir un primer y un segundo sitio lox que después se ponen en contacto con una Cre recombinasa. Si los sitios lox están en la misma orientación, entonces la secuencia de ADN intermedia entre los dos sitios se escinde. Si los sitios lox están en orientación opuesta, la secuencia intermedia se invierte.

[0208] Los polinucleótidos y polipéptidos de esta memoria también se pueden expresar en una planta en ausencia de un casete de expresión, manipulando la actividad o nivel de expresión del gen endógeno por otros medios, tales como por ejemplo, mediante la expresión ectópica de un gen mediante marcaje de activación de ADN-T (Ichikawa y col. (1997) *Nature* 390 698-701; Kakimoto y col. (1996) *Science* 274: 982-985). Este procedimiento conlleva transformar una planta con un marcador de gen que contiene múltiples potenciadores transcripcionales y una vez que se ha insertado el marcador en el genoma, queda desregulada la expresión de un gen flanqueador que codifica la secuencia. En otro ejemplo, la maquinaria transcripcional de una planta se puede modificar para que aumente los niveles de transcripción de un polinucleótido de la invención. (Véase, por ejemplo, las publicaciones PCT WO 96/06166 y WO98/53057, que describen la modificación de la especificidad de unión al ADN de proteínas de dedos de cinc cambiando aminoácidos particulares en el patrón de unión al ADN).

[0209] La planta transgénica también puede incluir la maquinaria necesaria para expresar o alterar la actividad de un polipéptido codificado por un gen endógeno, por ejemplo, alterando el estado de fosforilación del polipéptido para mantenerlo en un estado activado.

[0210] Las plantas transgénicas (o células de plantas o explantes de plantas o tejidos de plantas) que incorporan los polinucleótidos de la memoria y/o expresan los polipéptidos de la memoria se pueden producir por una variedad de técnicas bien establecidas como se ha descrito antes. Después de la construcción de un vector, lo más típico un casete de expresión, que incluye un polinucleótido que codifica, por ejemplo, un factor de transcripción u homólogo del factor de transcripción, se pueden usar técnicas estándar para introducir el polinucleótido en una planta, una célula de planta, un explante de planta o un tejido de planta de interés. Opcionalmente, la célula, explante o tejido de planta se pueden regenerar para producir una planta transgénica.

[0211] La planta puede ser cualquier planta superior, incluyendo plantas gimnospermas, monocotiledóneas y dicotiledóneas. Están disponibles protocolos adecuados para *Leguminosae* (alfalfa, soja, trébol, etc.), *Umbeliferae* (zanahoria, apio, chirivía), *Cruciferae* (col, rábano, colza, brócoli, etc.), *Cucurbitaceae* (melón y pepino), *Gramineae* (trigo, maíz, arroz, cebada, mijo, etc.), *Solanaceae* (patata, tomate, tabaco, pimientos, etc.), y otros cultivos diferentes. Véanse los protocolos descritos en Ammirato y col., eds., (1984) "Handbook of Plant Cell Culture-Crop Species", Macmillan Publ. Co., Nueva York, NY; Shimamoto y col. (1989) *Nature* 338: 274-276; Fromm y col. (1990) *Bio/Technol.* 8: 833-839; y Vasil y col. (1990) *Bio/Technol.* 8: 429-434.

[0212] La transformación y regeneración de células de plantas tanto monocotiledóneas como dicotiledóneas ahora es rutinario, y la selección de la técnica de transformación más adecuada la determinará el experto. La elección del procedimiento variará con el tipo de planta que se va a transformar; los expertos en la materia reconocerán la idoneidad de procedimientos particulares para tipos de plantas dados. Los procedimientos adecuados pueden incluir, pero sin limitar: electroporación de protoplastos de plantas; transformación mediada por liposomas; transformación mediada por polietilenglicol (PEG); transformación usando virus; microinyección de células de plantas; bombardeo con microproyectiles de células de plantas; infiltración al vacío; y transformaciones mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. La transformación significa introducir una secuencia de nucleótidos en una planta de una forma para producir la expresión estable o transitoria de la secuencia.

[0213] Los ejemplos satisfactorios de modificación de características de las plantas mediante transformación con secuencias clonadas que sirven para ilustrar el conocimiento actual en este campo de tecnología, y que se incorporan en el presente documento por referencia, incluyen: patente de EE.UU. nº 5.571.706; 5.677.175; 5.510.471; 5.750.386; 5.597.945; 5.589.615; 5.750.871; 5.268.526; 5.780.708; 5.538.880; 5.773.269; 5.736.369 y 5.610.042.

[0214] Después de la transformación, las plantas se seleccionan preferiblemente usando un marcador seleccionable dominante incorporado en el vector de transformación. Típicamente, dicho marcador conferirá resistencia a un antibiótico o herbicida a las plantas transformadoras, y la selección de los transformantes se puede llevar a cabo exponiendo las plantas a concentraciones adecuadas del antibiótico o herbicida.

[0215] Después de seleccionar las plantas transformadas y cultivarlas hasta la madurez, se identifican aquellas plantas que presentan un rasgo modificado. El rasgo modificado puede ser cualquiera de los rasgos descritos antes. Además, para confirmar que el rasgo modificado se debe a los cambios en los niveles de expresión o actividad del

polipéptido o polinucleótido, se puede determinar analizando la expresión del ARNm usando transferencias Northern, RT-PCR o micromatrices, o la expresión de proteínas usando inmunotransferencias o transferencias Western o ensayos de desplazamiento en gel.

5 Sistemas integrados - identidad de secuencias

[0216] Además, se describe aquí un sistema integrado, ordenador o medio de lectura por ordenador que comprende un conjunto de instrucciones para determinar la identidad de una o más secuencias en una base de datos. Además, el conjunto de instrucciones se puede usar para generar o identificar secuencias que cumplen cualquiera de los criterios especificados. Además, el conjunto de instrucciones se puede usar para asociar o conectar determinados beneficios opcionales, tales como características mejoradas, con una o más secuencias identificadas.

[0217] Por ejemplo, el conjunto de instrucciones puede incluir, por ejemplo, una comparación de secuencias u otro programa de alineamiento, por ejemplo, un programa disponible tal como, por ejemplo, Wisconsin Package Versión 10.0, tales como BLAST, FASTA, PILEUP, FINDPATTERNS o similares (GCG, Madison, WI). Se pueden buscar bases de datos de secuencias públicas tales como GenBank, EMBL, Swiss-Prot y PIR o bases de datos de secuencias privadas tales como la base de datos de secuencias PHYTOSEQ (Incyte Genomics, Palo Alto, CA).

[0218] El alineamiento de secuencias para la comparación se puede llevar a cabo mediante el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2: 482-489, mediante el algoritmo de alineamiento de homología de Needleman y Wunsch (1970) *J. Mol. Biol.* 48: 443-453, mediante la búsqueda por el procedimiento de similitud de Pearson y Lipman (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85: 2444-2448, mediante implementaciones computerizadas de estos algoritmos. Después del alineamiento, típicamente se llevan a cabo las comparaciones de secuencias entre dos (o más) polinucleótidos o polipéptidos comparando las secuencias de las dos secuencias a lo largo de una ventana de comparación para identificar y comparar regiones locales de similitud de secuencia. La ventana de comparación puede ser un segmento de por lo menos aproximadamente 20 posiciones contiguas, normalmente de aproximadamente 50 a aproximadamente 200, más habitualmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 posiciones contiguas. Se proporciona una descripción del procedimiento en Ausubel y col., supra.

[0219] Se puede usar una variedad de procedimientos para determinar las relaciones de las secuencias, incluyendo el alineamiento manual y el alineamiento y análisis de secuencias asistido por ordenador. Esta última estrategia es una estrategia preferida debido al mayor rendimiento que se logra mediante los procedimientos asistidos por ordenador. Como se ha indicado antes, están disponibles una variedad de programas de ordenador para llevar a cabo el alineamiento de secuencias, o los puede producir el experto.

[0220] Un algoritmo de ejemplo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencias y la similitud de secuencias es el algoritmo BLAST, que se describe en Altschul y col. (1990) *J. Mol. Biol.* 215: 403-410. El software para llevar a cabo los análisis con BLAST está disponible al público, por ejemplo, a través del National Library of Medicine's National Center for Biotechnology Information (ncbi.nlm.nih; página web (www) del National Institutes of Health US government (gov)). Este algoritmo implica identificar primero pares de secuencias con una puntuación alta (HSP) identificando palabras cortas de longitud W en la secuencia de consulta, que se corresponden o satisfacen alguna puntuación T umbral de valor positivo cuando se alinean con una palabra de la misma longitud en una secuencia de la base de datos. T se denomina umbral de puntuación de palabras vecinas (Altschul y col., supra). Estos aciertos de palabras vecinas iniciales actúan como semillas para iniciar las búsquedas para encontrar HSP más largas que los contienen: los aciertos de palabras se extienden entonces en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia hasta tan lejos como se pueda aumentar la puntuación acumulativa de alineamiento. Las puntuaciones acumulativas se calculan usando, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (puntuación de recompensa para un par de residuos de emparejamiento; siempre >0) y N (puntuación de penalización para los residuos de emparejamiento erróneo; siempre <0). Para secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de puntuación para calcular la puntuación acumulativa. La extensión de los aciertos de palabras en cada dirección se detiene cuando: la puntuación acumulativa del alineamiento disminuye en la cantidad X desde su máximo valor alcanzado; la puntuación acumulativa va a cero o por debajo, debido a la acumulación de uno o más alineamientos de residuos de puntuación negativa; o se llega al extremo de cualquiera de las secuencias. Los parámetros del algoritmo BLAST W , T y X determinan la sensibilidad y velocidad del alineamiento. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) usa por defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, un punto de corte de 100, $M=S$, $N=-4$, y una comparación de ambas cadenas. Para las secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP usa por defecto una longitud de palabra (W) de 3, una expectativa (E) de 10, y la matriz de puntuación BLOSUM62 (Henikoff y Henikoff (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89: 10915-10919). Salvo que se indique lo contrario, la "identidad de secuencia" en el presente documento se refiere al % de identidad de secuencia generado a partir de `tblastx` usando la versión de NCBI del algoritmo con los parámetros por defecto usando alineamientos incompletos con el filtro apagado (por ejemplo, en la página web de NIH NLM NCBI ncbi.nlm.nih, supra).

[0221] Además de calcular el porcentaje de identidad de secuencia, el algoritmo BLAST también lleva a cabo un análisis estadístico de la similitud entre las dos secuencias (por ejemplo, en Karlin y Altschul (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90: 5873-5787). Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la probabilidad de la suma

más pequeña ($P(N)$), que proporciona una indicación de la probabilidad con la que ocurriría por azar un emparejamiento entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos. Por ejemplo, se considera que un ácido nucleico es similar a una secuencia de referencia (y, por lo tanto, en este contexto, homóloga) si la probabilidad de la suma más pequeña en una comparación del ácido nucleico de ensayo respecto al ácido nucleico de referencia es menor de aproximadamente 0,1, o menor de aproximadamente 0,01, o incluso menor de aproximadamente 0,001. Un ejemplo adicional de un algoritmo de alineamiento de secuencias útiles PILEUP. PILEUP crea un alineamiento de secuencias múltiples a partir de un grupo de secuencias relacionadas usando alineamientos por pares, progresivos. El programa puede lineal, por ejemplo, hasta 300 secuencias de una longitud máxima de 5.000 letras.

[0222] El sistema integrado, u ordenador, típicamente incluye un interfaz de entrada de usuario que permite al usuario ver selectivamente uno o más registros de secuencias correspondientes a una o más cadenas de caracteres, así como un conjunto de instrucciones que alinea la una o más cadenas de caracteres entre sí o con una cadena de caracteres adicional para identificar una o más regiones de similitud de secuencia. El sistema puede incluir una conexión de una o más cadenas de caracteres con un fenotipo particular o función génica. Típicamente, el sistema incluye un elemento de salida de lectura por el usuario que presenta un alineamiento producido por el conjunto de instrucciones de alineamiento.

[0223] Los procedimientos anteriores se pueden implementar en un entorno de computación localizado o distribuido. En un entorno distribuido, los procedimientos se pueden implementar en un solo ordenador que comprende múltiples procesadores o en una multiplicidad de ordenadores. Los ordenadores pueden estar conectados, por ejemplo, a través de un bus común, más preferiblemente el o los ordenadores son nodos en una red. La red ha de ser una red generalizada o local y dedicada o de área amplia, y en determinadas realizaciones preferidas, los ordenadores pueden ser componentes de una intranet o un internet.

[0224] Por lo tanto, la memoria proporciona procedimientos para identificar una secuencia similar u homóloga a uno o más polinucleótidos como se indica en el presente documento, o uno o más polipéptidos diana codificados por los polinucleótidos, o indicados de otra forma en el presente documento, y pueden incluir la conexión o asociación de un fenotipo o función génica de una planta dada con una secuencia. En los procedimientos, se proporciona una base de datos de secuencias (localmente o a través de una intranet o internet) y se hace una consulta a la base de datos de secuencias usando las secuencias relevantes del presente documento y fenotipos o funciones génicas asociados de la planta.

[0225] Se puede introducir cualquier secuencia del presente documento en la base de datos, antes o después de la consulta en la base de datos. Esto proporciona tanto la expansión de la base de datos como, si se hace antes de la etapa de consulta, la inserción de secuencias de control en la base de datos. Las secuencias de control se pueden detectar mediante la consulta para asegurar la integridad general tanto de la base de datos como de la consulta. Como se ha indicado, la consulta se puede llevar a cabo usando un interfaz basado en un navegador de internet. Por ejemplo, la base de datos puede ser una base de datos pública centralizada tal como las indicadas en el presente documento, y la consulta se puede hacer desde un terminal u ordenador remotos a través de internet o intranet.

[0226] Cualquier secuencia del presente documento se puede usar para identificar una secuencia similar, homóloga, paróloga u ortóloga en otra planta. Esto proporciona medios para identificar secuencias endógenas en otras plantas que pueden ser útiles para alterar un rasgo de las plantas descendientes, que resulta del cruce de dos plantas de cepas diferentes. Por ejemplo, se pueden identificar secuencias que codifican un ortólogo de cualquiera de las secuencias del presente documento que están de forma natural en una planta con un rasgo deseado, usando las secuencias descritas en el presente documento. Después, la planta se cruza con una segunda planta de la misma especie pero que no tiene el rasgo deseado, para producir descendencia que después se puede usar en experimentos de cruce posteriores para producir el rasgo deseado en la segunda planta. Por lo tanto, la planta descendiente resultante no contiene transgenes; la expresión de la secuencia endógena también se puede regular por el tratamiento con un producto químico particular u otros medios, tales como EMR. Algunos ejemplos de dichos compuestos bien conocidos en la técnica incluyen: etileno; citoquinas; compuestos fenólicos; los cuales estimulan la transcripción de los genes necesarios para la infección; monosacáridos específicos y entornos ácidos que potencian la inducción de genes; polisacáridos ácidos que inducen uno o más genes cromosómicos; y opines; otros mecanismos incluyen tratamiento de luz u oscuridad (para una revisión de ejemplos de dichos tratamientos, véase Winans (1992) *Microbiol. Rev.* 56: 12-31; Eyal y col. (1992) *Plant. Mol. Biol.* 19: 589-599; Chrispeels y col. (2000) *Plant Mol. Biol.* 42: 279-290; Piazza y col. (2002) *Plant Physiol.* 128:1077-1086).

[0227] La tabla 7 indica secuencias descubiertas por ser ortólogas a un conjunto de factores de transcripción representativos de la presente memoria. Los encabezados de columna incluyen los factores de transcripción indicados por (a) la SEQ ID NO: de la secuencia de Arabidopsis que se utilizó para descubrir la secuencia ortóloga no de Arabidopsis; (b) el identificador de secuencia GID de la secuencia de Arabidopsis; (c) el identificador de Secuencia o Número de Acceso de GenBank de la secuencia ortóloga; (d) la especie de la que deriva la secuencia ortóloga; (e) la SEQ ID NO: de la secuencia ortóloga no de Arabidopsis y (e) la comparación por parejas de la probabilidad de suma más pequeña de cada secuencia ortóloga con la secuencia similar de Arabidopsis determinada por análisis BLAST.

ES 2 380 017 T3

Tabla 7. Ortólogos de genes de factores de transcripción de *Arabidopsis*

SEQ ID No: de la secuencia de <i>Arabidopsis</i> utilizada para descubrir la ortóloga	GID No.	Especie de la que deriva la ortóloga	Identificador de secuencia o número de acceso	SEQ ID NO: de la secuencia ortóloga	Probabilidad de suma más pequeña al ortólogo, cuando se conoce
327	G1988	<i>Glycine max</i>	GLYMA-28NOV01-CLUSTER75453_1	1098	
327	G1988	<i>Glycine max</i>	GLYMA-28NOV01-CLUSTER75453_2	1099	
327	G1988	<i>Oryza sativa</i>	ORYSA-22JAN02-CLUSTER153439_2	1100	
327	G1988	<i>Zea mays</i>	ZEAMA-08NOV01-CLUSTER10890_1	1101	
327	G1988	<i>Zea mays</i>	ZEAMA-08NOV01-CLUSTER10890_3	1102	
327	G1988	<i>Zea mays</i>	ZEAMA-08NOV01-CLUSTER201962_1	1103	
327	G1988	<i>Zea mays</i>	ZEAMA-08NOV01-CLUSTER3040_3	1104	
327	G1988	<i>Oryza sativa</i>	Os_S91481	1601	
327	G1988	<i>Lycopersicon esculentum</i>	SGN-UNIGENE SINGLET-5090	2045	
328	G1988	<i>Brassica oleracea</i>	BH478747		5,00E-23
328	G1988	<i>Populus balsamifera subsp. trichocarpa</i>	BU873581		7,00E-22
328	G1988	<i>Citrus unshiu</i>	C95300		2,00E-18
328	G1988	<i>Lycopersicon esculentum</i>	AW034552		2,00E-18
328	G1988	<i>Oryza sativa</i> (grupo de cultivo <i>indica</i>)	AAAA01000340		1,00E-17
328	G1988	<i>Beta vulgaris</i>	BQ594583		1,00E-16
328	G1988	<i>Zea mays</i>	CC655765		2,00E-15
328	G1988	<i>Glycine max</i>	BI469275		8,00E-15
328	G1988	<i>Prunus persica</i>	BU046688		7,00E-14
328	G1988	<i>Vitis vinifera</i>	CD719941		2,00E-13
328	G1988	<i>Malus x domestica</i>	gi4091806		2,60E-07
328	G1988	<i>Brassica napus</i>	gi30984027		1,10E-06
328	G1988	<i>Brassica nigra</i>	gi22854920		1,10E-06
328	G1988	<i>Raphanus sativus</i>	gi3341723		2,70E-06
328	G1988	<i>Oryza sativa</i> (grupo de cultivo <i>japónica</i>)	gi32488104		4,80E-06
328	G1988	<i>Ipomoea nil</i>	gi10946337		5,10E-06
328	G1988	<i>Oryza sativa</i>	gi11094211		2,20E-05
328	G1988	<i>Hordeum vulgare</i>	gi21667475		4,50E-05
328	G1988	<i>Hordeum vulgare subsp. vulgare</i>	gi21655168		0,00018
328	G1988	<i>Pinus radiata</i>	Gi4557093		0,0016

[0228] La tabla 9 enumera el número de identificación de genes (GID) y relaciones para secuencias homólogas (halladas utilizando el análisis según el Ejemplo IX) y secuencias variantes para las secuencias del Listado de secuencias.

5

Tabla 9. Relaciones de similitud halladas en el listado de secuencias

SEQ ID No.	GID	ADN o Proteína (PRT)	Especie de la que deriva la secuencia	Relación
1098		ADN	<i>Glycine max</i>	Secuencia de polipéptido prevista es ortóloga a G1988
1099		ADN	<i>Glycine max</i>	Secuencia de polipéptido prevista es ortóloga a G1988
1100		ADN	<i>Oryza sativa</i>	Secuencia de polipéptido prevista es ortóloga a G1988
1101		ADN	<i>Zea mays</i>	Secuencia de polipéptido prevista es ortóloga a G1988
1102		ADN	<i>Zea mays</i>	Secuencia de polipéptido prevista es ortóloga a G1988
1103		ADN	<i>Zea mays</i>	Secuencia de polipéptido prevista es ortóloga a G1988
1104		ADN	<i>Zea mays</i>	Secuencia de polipéptido prevista es ortóloga a G1988
1601		ADN	<i>Oryza sativa</i>	Secuencia de polipéptido prevista es ortóloga a G1988
2045		ADN	<i>Lycopersicon esculentum</i>	Secuencia de polipéptido prevista es ortóloga a G1988

EJEMPLOS

10 **[0229]** La invención, descrita ahora de forma general, se entenderá mejor por referencia a los siguientes ejemplos, que se incluyen simplemente con el propósito de ilustrar determinados aspectos y realizaciones de la presente invención y no se pretende que limiten la invención. El experto en la materia reconocerá que un factor de transcripción que está asociado con un primer rasgo particular también puede estar asociado con por lo menos otro segundo rasgo no relacionado e inherente que no se había predicho por el primer rasgo.

15 **[0230]** Las descripciones completas de los rasgos asociados con cada polinucleótido de la invención se describen con detalle en la tabla 4 y la tabla 6. La descripción completa de la familia de genes de factores de transcripción y dominios conservados identificados de los polipéptidos codificados por el polinucleótido se describe en detalle en la tabla 5.

20

Ejemplo I: Identificación y clonación de genes de longitud completa

25 **[0231]** Se identificaron secuencias de factores de transcripción presuntos (genómicas o EST) relacionadas con factores de transcripción conocidos en la base de datos de GenBank de *Arabidopsis thaliana* usando el programa de análisis de secuencias tblastn usando los parámetros por defecto y un umbral del valor de punto de corte P de -4 o -5 o inferior, dependiendo de la longitud de la secuencia de consulta. Después se cribaron los aciertos de la secuencia del factor de transcripción presunto para identificar aquellos que contienen cadenas de secuencia particulares. Si los aciertos de secuencia contenían dichas cadenas de secuencias, las secuencias se confirmaban como factores de transcripción.

30

35 **[0232]** Alternativamente, se cribaron bibliotecas de ADNc de *Arabidopsis thaliana* obtenidas de diferentes tejidos o tratamientos, o bibliotecas genómicas, para identificar nuevos miembros de una familia de transcripción usando un procedimiento de hibridación en condiciones rigurosas bajas. Se sintetizaron sondas usando cebadores específicos de genes en una reacción de PCR estándar (temperatura de reasociación 60°C) y se marcaron con ³²P dCTP usando el kit de marcaje High Prime DNA Labeling (Boehringer Mannheim Corp. (ahora Roche Diagnostics Corp., Indianapolis, IN)). Las sondas radiomarcadas purificadas se añadieron a filtros sumergidos en medio de hibridación

Church (NaPO₄ 0,5 M pH 7,0, SDS al 7%, albúmina de suero bovino al 1% en p/v) y se hibridaron durante la noche a 60°C con agitación. Los filtros se lavaron dos veces durante 45 a 60 minutos con 1 x SCC, SDS al 1% a 60°C.

[0233] Para identificar secuencias adicionales 5' o 3' de una secuencia de ADNc parcial en una biblioteca de ADNc, se llevó a cabo la amplificación rápida 5' y 3' de los extremos del ADNc (RACE) usando el kit de amplificación de ADNc MARATHON (Clontech, Palo Alto, CA). En general, el procedimiento implica aislar primero el poli(A)-ARNm, llevando a cabo la síntesis de la primera y segunda cadena de ADNc para generar ADNc de doble cadena, hacer los extremos romos del ADNc, seguido de la unión del adaptador MARATHON al ADNc para formar una biblioteca de ADNc de doble cadena ligado al adaptador.

[0234] Se diseñaron cebadores específicos de gen para usar junto con cebadores específicos del adaptador para la reacciones RACE tanto 5' como 3'. Se usaron cebadores anidados en lugar de cebadores sencillos, para aumentar la especificidad de la PCR. Usando las reacciones RACE de 5' y 3', se obtuvieron fragmentos de RACE 5' y 3', se secuenciaron y se clonaron. El procedimiento se puede repetir hasta identificar los extremos 5' y 3' del gen de longitud completa. Después se generó el ADNc de longitud completa por PCR usando cebadores específicos para los extremos 5' y 3' del gen mediante PCR de extremo a extremo.

Ejemplo II: Construcción de vectores de expresión

[0235] La secuencia se amplificó a partir de una biblioteca genómica o de ADNc usando cebadores específicos para las secuencias en dirección 5' y dirección 3' de la región codificante. El vector de expresión era pMEN20 o pMEN65, que derivan ambos de pMON316 (Sanders y col. (1987) *Nucleic Acids Res.* 15:1543-1558) y contienen el promotor 35S de CaMV. Para clonar la secuencia en el vector, se digirieron tanto pMEN20 como el fragmento de ADN amplificado por separado con las enzimas de restricción Sall y NotI a 37°C durante 2 horas. Los productos de digestión se sometieron a electroforesis en un gel de agarosa al 0,8% y se visualizaron mediante tinción con bromuro de etidio. Los fragmentos de ADN que contenían la secuencia y el plásmido linealizado se escindieron y se purificaron usando un kit de extracción en gel de QIAQUICK (Qiagen, Valencia CA). Los fragmentos de interés se ligaron en una relación de 3:1 (vector a inserto). Las reacciones de ligación usando la ADN ligasa T4 (New England Biolabs, Beverly MA) se llevaron a cabo a 16°C durante 16 h. Los ADN ligados se transformaron en células competentes de la cepa de *E. coli* DH5 α usando el procedimiento de choque térmico. Las transformaciones se cultivaron en placas LB que contenían kanamicina 50 mg/l (Sigma Chemical Co. St. Louis MO). Las colonias individuales se cultivaron durante la noche en 5 ml de caldo LB que contenía kanamicina 50 mg/l a 37°C. El ADN plasmídico se purificó usando los kits Qiaquick Mini Prep kits (Qiagen).

Ejemplo III: Transformación de *Agrobacterium* con el vector de expresión

[0236] Después de construir el vector plasmídico que contenía el gen, el vector se usó para transformar células de *Agrobacterium tumefaciens* que expresaban los productos génicos. La cepa de células de *Agrobacterium tumefaciens* para la transformación se hizo como describen Nagel y col. (1990) *FEMS Microbiol Letts.* 67: 325-328. Se cultivó la cepa ABI de *Agrobacterium* en 250 ml de medio LB (Sigma) durante la noche a 28°C con agitación hasta que se alcanzó una absorbancia a lo largo de 1 cm a 600 nm (A_{600}) de 0,5 -1,0. Las células se recogieron por centrifugación a 4.000 x g durante 15 min a 4°C. Después las células se volvieron a suspender en 250 ml de tampón enfriado (HEPES 1 mM, pH ajustado a 7,0 con KOH). Las células se centrifugaron otra vez como se ha descrito antes y se volvieron a suspender en 125 μ l de tampón enfriado. Después, las células se centrifugaron y se volvieron a suspender dos veces más en el mismo tampón HEPES como se ha descrito antes con un volumen de 100 μ l y 750 μ l, respectivamente. Después, las células resuspendidas se distribuyeron en partes alícuotas de 40 μ l, se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C.

[0237] Las células de *Agrobacterium* se transformaron con plásmidos preparados como se ha descrito antes siguiendo el protocolo descrito por Nagel y col., supra. Para cada construcción de ADN que se iba a transformar, se mezclaron 50-100 ng de ADN (en general resuspendido en Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM, pH 8,0) con 40 μ l de células de *Agrobacterium*. La mezcla de ADN/células después se transfirió a una cubeta enfriada con un hueco de electrodo de 2 mm y se sometió a una carga de 2,5 kV disipada a 25 μ F y 200 μ F usando un aparato Gene Pulser II (Bio-Rad, Hercules, CA). Después de electroporación, las células se volvieron a suspender inmediatamente en 1,0 ml de LB y se dejaron recuperar sin selección con antibiótico durante 2-4 h a 28°C en un incubador con agitación. Después de recuperación, las células se cultivaron en medio de caldo LB que contenía estreptomycin 100 μ g/ml (Sigma) y se incubaron durante 24-48 horas a 28°C. Después se recogieron colonias individuales y se inocularon en medio reciente. La presencia de la construcción del plásmido se verificó por amplificación por PCR y análisis de secuencia.

Ejemplo IV: Transformación de plantas de *Arabidopsis* con *Agrobacterium tumefaciens* con vector de expresión

[0238] Después de la transformación de *Agrobacterium tumefaciens* con vectores plasmídicos que contenían el gen, se identificaron colonias individuales de *Agrobacterium*, se propagaron y se usaron para transformar plantas de

Arabidopsis. Brevemente, se inocularon cultivos de 500 ml de medio LB que contenía kanamicina 50 mg/ml con las colonias y se cultivaron a 28°C con agitación durante 2 días hasta alcanzar una absorbancia óptica a 600 nm de longitud de onda a lo largo de 1 cm (A_{600}) de >2,0. Después, se recogieron las células por centrifugación a 4.000 x g durante 10 min y se volvieron a suspender en medio de infiltración (1/2 X sales de Murashige y Skoog (Sigma), 1 X vitaminas B-5 de Gamborg (Sigma), sacarosa al 5,0% (p/v) (Sigma), bencilamino-purina 0,044 μ M (Sigma), Silwet L-77 200 μ l/l (Lehle Seeds)) hasta alcanzar una A_{600} de 0,8.

[0239] Antes de la transformación, las semillas de *Arabidopsis thaliana* (ecotipo Columbia) se sembraron con una densidad de ~10 plantas por maceta de 5 cm en medio de siembra en maceta Pro-Mix BX (Hummert International) cubiertas con malla de fibra de vidrio (18 mm X 16 mm). Las plantas se cultivaron con iluminación continua (50-75 μ E/m²/s) a 22-23°C con una humedad relativa de 65-70%. Después de aproximadamente 4 semanas, se cortan los tallos de inflorescencias primarias (espigas) para potenciar el crecimiento de múltiples espigas secundarias. Después de florecer las espigas secundarias maduras, las plantas se prepararon para la transformación retirando todas las silicuas y flores abiertas.

[0240] Después, las macetas se sumergieron boca abajo en la mezcla de medio de infiltración de *Agrobacterium* como se ha descrito antes durante 30 s, y se pusieron de lado para permitir el drenaje en una superficie plana de 2,54 x 5 cm cubiertas con una envoltura plástica. Después de 24 h, se retiró la envoltura plástica y las macetas se pusieron derechas. El procedimiento de inmersión se repitió una semana después, durante un total de 2 inmersiones por maceta. Después se recogieron las semillas de cada maceta de transformación y se analizaron siguiente el siguiente protocolo descrito.

Ejemplo V: Identificación de transformantes primarios de *Arabidopsis*

[0241] Las semillas recogidas de las macetas de transformación se esterilizaron esencialmente como sigue. Las semillas se dispersaron en una disolución que contenía Triton X-100 (Sigma) al 0,1% (v/v) y agua estéril y se lavaron agitando la suspensión durante 20 min. La disolución de lavado después se drenó y se sustituyó por una disolución de lavado reciente para lavar las semillas durante 20 min con agitación. Después de eliminar la disolución de etanol/detergente, se añadió a las semillas una suspensión que contenía Triton X-100 al 0,1 % (v/v) y lejía al 30% (v/v) (CLOROX; Clorox Corp. Oakland CA), y la suspensión se agitó durante 10 min. Después de separar la disolución de lejía/detergente, las semillas se lavaron 5 veces en agua destilada estéril. Las semillas se almacenaron en el último agua de lavado a 4°C durante 2 días en la oscuridad antes de cultivarlas en placa en medio de selección con antibiótico (1 X sales de Murashige y Skoog (pH ajustado a 5,7 con KOH 1 M), 1 X vitaminas B-5 de Gamborg, Phytagar al 0,9% (Life Technologies) y kanamicina 50 mg/l). Las semillas se germinaron con iluminación continua (50-75 μ E/m²/s) a 22-23°C. Después de 7-10 días de crecimiento en estas condiciones, se obtuvieron los transformantes primarios resistentes a la kanamicina (generación T1) que eran visibles. Estas plántulas se transfirieron primero a placas de selección recientes, en las que las plántulas continuaron creciendo durante 3-5 días más, y después al suelo (medio de siembra en macetas Pro-Mix BX).

[0242] Los transformantes primarios se cruzaron con semillas de la descendencia (T₂) recogidas; se seleccionaron las plántulas resistentes a la kanamicina y se analizaron. Los niveles de expresión de los polinucleótidos recombinantes en los transformantes varía de aproximadamente un aumento del nivel de expresión de 5% hasta por lo menos un aumento del nivel de expresión de 100%. Se hicieron observaciones similares con respecto al nivel de expresión del polipéptido.

Ejemplo VI: Identificación de plantas de *Arabidopsis* con inactivaciones (knockouts) de genes de factores de transcripción

[0243] El cribado de las colecciones de *Arabidopsis* mutagenizadas por inserción para mutantes nulos en un gen diana conocido, se hizo esencialmente como describen Krysan y col. (1999) *Plant Cell* 11: 2283-2290. Brevemente, se diseñaron cebadores específicos de gen, anidados por 5-250 pares de bases entre sí, a partir de las regiones 5' y 3' de un gen diana conocido. Igualmente, también se crearon grupos de cebadores anidados específicos para cada uno de los ADN-T o extremos de transposones (los bordes "derecho" e "izquierdo"). Se usaron todas las posibles combinaciones de cebadores específicos de gen y ADN-T/transposón para detectar por PCR un suceso de inserción dentro o cerca del gen diana. Después, los fragmentos de ADN amplificados se secuenciaron, lo que permite la determinación precisa del punto de inserción del ADN-T/transposón con respecto al gen diana. Los sucesos de inserción dentro de la secuencia codificante o intermedia de los genes se desconvolucionaron de un grupo que comprendía una pluralidad de sucesos de inserción en una sola planta mutante única para la caracterización funcional. El procedimiento se describe con más detalle en Yu y Adam, solicitud de EE.UU. n° de serie 09/177.733 presentada el 23 de octubre, 1998.

Ejemplo VII: Identificación de fenotipos modificados en plantas con sobreexpresión o knockout de genes.

[0244] Los experimentos se realizaron para identificar aquellos transformantes o knockouts que mostraron características bioquímicas modificadas. Entre las sustancias bioquímicas que se analizaron estaban los azúcares

insolubles, tales como arabinosa, fucosa, galactosa, manosa, ramnosa o xilosa o similares; prenil lípidos, tales como luteína, beta-caroteno, xantofilo-1, xantofilo-2, clorofilas A o B, o alfa-, delta- o gamma-tocoferol o similares; ácidos grasos, tales como 16:0 (ácido palmítico), 16:1 (ácido palmitoleico), 18:0 (ácido esteárico), 18:1 (ácido oleico), 18:2 (ácido linoleico), 20:0, 18:3 (ácido linolénico), 20:1 (ácido eicosenoico), 20:2, 22:1 (ácido erúxico) o similar; ceras, tales como mediante la alteración de los niveles de alcanos C29, C31, o C33; esteroides, tales como brassicasterol, campesterol, estigmasterol, sitosterol o estigmastanol o similares, niveles de glucosinolatos, proteína o aceite.

[0245] Los ácidos grasos se midieron utilizando dos procesos dependiendo de si el tejido era de hojas o semillas. Para las hojas, se extrajeron lípidos y se esterificaron con H₂SO₄ metanólico y se separó en hexano de salmuera metanólica. Para ácidos grasos de semillas, se pulverizaron las semillas y se extrajeron en metanol:heptano:tolueno:2,2-dimetoxipropano:H₂SO₄ (39:34:20:5:2) durante 90 minutos a 80°C. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la fase superior, que contenía los ésteres de ácidos grasos de la semilla, se sometió a análisis GC. Los ésteres de ácidos grasos de los tejidos de semilla y hoja se analizaron con una columna SUPELCO SP-2330 (Supelco, Bellefonte, PA).

[0246] Los glucosinolatos se purificaron de las semillas o las hojas mediante el calentamiento el primer lugar del tejido a 95°C durante 10 minutos. Se añade etanol:agua (50:50) precalentado y después del calentamiento a 95°C durante 10 minutos adicionales, se aplica el disolvente de extracción a una columna SEPHADEX DEAE (Pharmacia) que se había equilibrado previamente con acetato de piridina 0,5 M. Se eluyeron los desulfoglucosinolatos con 300 µl de agua y se analizaron mediante HPLC de fase inversa con seguimiento a 226 nm.

[0247] Para alcanos de ceras, se extrajeron muestras utilizando un proceso idéntico al de los ácidos grasos y se analizaron los extractos en un GC HP 5890 acoplado con un MSD 5973. Las muestras se aislaron cromatográficamente en un espectrómetro de masas J&W DB35 (J&W Scientific Agilent Technologies, Folsom, CA).

[0248] Para medir los niveles de prenil lípidos, se pulverizaron las semillas o las hojas con pirogalol al 1 a 2% como antioxidante. Para las semillas, se filtraron las muestras extraídas y se extrajo una porción para el análisis de tocoferol y carotenoide/clorofila mediante HPLC. El material restante se saponificó para la determinación de esterol. Para las hojas, se extrajo una alícuota y se diluyó con metanol y clorofila A, clorofila B y se midió el total de carotenoides mediante espectrofotometría mediante la determinación de la absorbancia óptica a 665,2 nm, 652,5 nm y 470 nm. Se extrajo una alícuota para la composición de tocoferol y carotenoide/clorofila mediante HPLC utilizando una columna Waters PBondapak C18 (4,6 mm x 150 mm). La solución metanólica restante se saponificó con KOH al 10% a 80°C durante una hora. Las muestras se enfriaron y se diluyeron con una mezcla de metanol y agua. Se le mezcló una solución de cloruro de metileno al 2% en hexano y se centrifugaron las mezclas. La fase acuosa de metabol se reextrajo de nuevo con cloruro de metileno al 2% en hexano y, después de la centrifugación, se combinaron las dos fases superiores y se evaporaron. Se añadió cloruro de metileno al 2% en hexano a los tubos y las muestras se extrajeron a continuación con un ml de agua. Se extrajo la fase superior, se secó y se resuspendió en 400 µl de cloruro de metileno al 2% en hexano y se analizó mediante cromatografía de gases utilizando una DB-5ms de 50 m (0,25 mm DI, 0,25 µm fase, J&W Scientific).

[0249] Los niveles de azúcares insolubles se midieron mediante el proceso descrito esencialmente por Reiter et al. (1999), Plant J. 12: 335-345. Este proceso analiza la composición de azúcares neutros de los polímeros de la pared celular hallados en las hojas de Arabidopsis. Los azúcares solubles se separaron de los polímeros de azúcares mediante la extracción de las hojas con etanola caliente al 70%. El residuo restante que contenía los polisacáridos insolubles se hidrolizaron a continuación con ácido con alosa añadida como patrón interno. Los monómeros de azúcares generados mediante la hidrólisis se redujeron a continuación hasta los correspondientes alditoles mediante el tratamiento con NaBH₄, a continuación se acetilaron para generar acetatos de alditol volátiles que se analizaron a continuación mediante GC-FID. La identidad de los picos se determinó mediante la comparación de los tiempos de retención de azúcares conocidos convertidos en los correspondientes acetatos de alditol con los tiempos de retención de picos de los extractos de plantas de tipo salvaje. Los acetatos de alditol se analizaron en una columna capilar Supelco SP-2330 (30 m x 250 µm x 0,2 µm) utilizando un programa de temperaturas que empieza a 180°C durante 2 minutos seguido de un incremento hasta 220°C en 4 minutos. Después de mantenerse a 220°C durante 10 minutos, la temperatura del horno se incrementa hasta 240°C en 2 minutos y se mantuvo a esta temperatura durante 10 minutos y se llevó a temperatura ambiente.

[0250] Para identificar las plantas con alteraciones en el contenido total de aceite o proteína en las semillas, se sometieron 150 mg de plantas de progenie T2 a un análisis de Espectroscopía de Reflectancia del Infrarrojo Cercano (NIRS) utilizando Foss NirSystems Modelo 6500 con un sistema de transporte de copa giratoria. La NIRS es un proceso analítico no destructivo utilizado para determinar la composición de aceite y proteína en la semilla. El infrarrojo es la región del espectro electromagnético situado después de la región visible en la dirección de las longitudes de onda más largas. "Infrarrojo cercano" debe su nombre por estar la región infrarroja cercana a la región visible del espectro electromagnético. Por razones prácticas, el infrarrojo cercano comprende longitudes de onda entre 800 y 2500 nm. La NIRS se aplica a compuestos orgánicos ricos en enlaces O-H (tales como humedad, carbohidratos, y grasas), enlaces C-H (tales como compuestos orgánicos y derivados del petróleo), y enlaces N-H (tales como proteínas y aminoácidos). Los instrumentos analíticos de NIRS operan mediante señales de NIRS que se correlacionan estadísticamente a varias longitudes de onda con la característica o propiedad pretendida para

medir. Todas las sustancias biológicas contienen miles de enlaces C-H, O-H, y N-H. Por lo tanto, la exposición a la radiación del infrarrojo cercano de una muestra biológica, tal como una semilla, da lugar a un espectro complejo que contiene información cualitativa y cuantitativa sobre la composición física y química de esa muestra.

5 **[0251]** El valor numérico de un analito específico en la muestra, tal como el contenido de proteína o el contenido de aceite, está mediado por una estrategia de calibración conocida como quimiometría. La quimiometría aplica procesos estadísticos, tales como la regresión lineal múltiple (MLR), análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS) y el análisis del componente principal (PCA), a los datos espectrales y se correlacionan con una propiedad física u otro factor, los cuales se determinan directamente en lugar de que la propia concentración de analito. El proceso proporciona primero datos de “química húmeda” de las muestras requeridas para el desarrollo de la calibración.

10 **[0252]** La calibración de la respuesta de NIRS se realizó utilizando datos obtenidos mediante un análisis químico húmedo de una población de ecotipos de *Arabidopsis* que se esperaba que representaran la diversidad de niveles de aceite y proteína.

15 **[0253]** La composición exacta de aceite de cada ecotipo utilizado en el experimento de calibración se realizó utilizando un análisis gravimétrico de aceites extraídos de muestras de semillas (0,5 g ó 1,0 g) mediante el proceso de extracción acelerada con disolvente (ASE; Dionex Corp, Sunnyvale, CA). El proceso de extracción se validó frente a muestras de canola certificadas (Community Bureau of Reference, Bélgica). Las muestras de semillas de cada ecotipo (0,5 g ó 1g) se sometieron a una extracción acelerada con disolvente y los pesos resultantes del aceite extraído en comparación con el peso de aceite recuperado de la semilla de cánola que se ha certificado por el contenido de aceite (Community Bureau of Reference). La ecuación de calibración del aceite se basó en 57 muestras con un intervalo de contenido de aceite del 27,0% al 50,8%. Para comprobar la validez de la curva de calibración, se extrajo un grupo adicional de muestras mediante ASE y se predijo utilizando la ecuación de calibración del aceite. Este grupo de validación presentaba 46 muestras, que variaban desde 27,9% a 47,5% de aceite, y tenían un error de acción estándar previsto de 0,63%. El proceso químico húmedo para la proteína fue un análisis elemental (%N X 6,0) utilizando el promedio de 3 muestras representativas de 5 mg cada una validadas frente a maíz molido certificado (NIST). La instrumentación fue un analizador elemental Elementar Vario-EL III operado en modo operativo CNS (Elementar Analysensysteme GmbH, Hanau, Alemania).

20 **[0254]** La ecuación de calibración de proteínas se basó en una biblioteca de 63 muestras con un intervalo del contenido de proteína de 17,4% a 31,2%. Se analizó un grupo adicional de muestras por las proteínas mediante análisis elemental (n = 57) y se rastreó mediante NIRS a efectos de validar la ecuación de predicción de proteína. El intervalo de proteína del grupo de validación fue de 16,8% a 31,2% y el error de predicción estándar fue de 0,468%.

25 **[0255]** El análisis NIRS de las semillas de *Arabidopsis* se llevó a cabo en muestras experimentales de 40-300 mg. El contenido de aceite y proteína se predijo utilizando las respectivas ecuaciones de calibración.

30 **[0256]** Los datos obtenidos del análisis de NIRS se analizó estadísticamente utilizando un análisis del “vecino más próximo” (N-N). El análisis NN permite la eliminación de la variabilidad espacial en un bloque de una manera bastante flexible, lo cual no requiere un conocimiento previo del patrón de variabilidad en la cámara. Idealmente, todos los híbridos se desarrollan bajo condiciones experimentales idénticas en un bloque (rep). En realidad, incluso en muchos diseños en bloque, existe una variabilidad significativa en el bloque. Los procedimientos del vecino más próximo se basan en la presunción de que el efecto medioambiental de un terreno está relacionado estrechamente con la de sus vecinos. Los procesos del vecino más próximo utilizan información de terrenos adyacentes para ajustar la heterogeneidad en un bloque y así proporcionar estimaciones más precisas de medios de tratamiento y diferencias. Si existe heterogeneidad en un bloque a una escala espacial que es mayor que un único terreno y es más pequeña que el bloque completo, entonces los rendimientos de los terrenos adyacentes se correlacionarán positivamente. La información de los terrenos vecinos se puede utilizar para reducir o eliminar el efecto no deseado de la heterogeneidad espacial y, por tanto, mejorar la estimación del efecto del tratamiento. Los datos de terrenos vecinos también se pueden utilizar para reducir la influencia de la competición entre terrenos adyacentes. El análisis N-N de Papadakis se puede utilizar con diseños para eliminar la variabilidad en un bloque que no se eliminaría con el análisis del terreno separado estándar ((Papadakis (1973) Inst. d'Amelior. Plantes Thessaloniki (Greece) Bull. Scientif. No. 23; Papadakis (1984) Proc. Acad. Athens 59: 326-342).

35 **[0257]** Los experimentos se realizaron para identificar aquellos transformantes o knockouts que mostraron una sensibilidad a azúcares modificada. Para dichos estudios, se germinaron semillas de transformantes en medios que contenían glucosa al 5% o sacarosa al 9,4% que normalmente parcialmente limitaban el alargamiento de hipocótilo. Las plantas con una sensibilidad alterada a azúcares pueden tener hipocótilos más largos o más cortos que plantas normales cuando se desarrollan en este medio. Adicionalmente, se pueden variar otros rasgos de las plantas, tales como la masa de raíz.

40 **[0258]** Los experimentos se pueden realizar para identificar aquellos transformantes o knockouts que mostraban una tolerancia mejorada a patógenos. Para dichos estudios, los transformantes se exponen a patógenos fúngicos biotrópicos, tales como *Erysiphe orontii*, y patógenos fúngicos necrotroficados, tales como *Fusarium oxysporum*. Los aislados de *Fusarium oxysporum* causan la marchitez vascular y la humectación de varias plantas de huerta, plantas

perennes y algas anuales (Mauch-Mani y Slusarenko (1994) Molec Plant-Microbe Interact. 7: 378-383). Para los experimentos con *Fusarium oxysporum*, se desarrollan plantas en placas de Petri y se pulverizan con una suspensión recién preparada de esporas de *F. oxysporum*. La suspensión de esporas se prepara de la siguiente manera: se coloca un tapón de hifas fúngicas de un cultivo en placas sobre una placa nueva de agar dextrosa de patata y se deja que se extienda durante una semana. A continuación, se añaden cinco ml de agua estéril a la placa, se centrifugan y se pipetea en 50 ml de medio Armstrong Fusarium. Las esporas se desarrollan durante la noche en medio Fusarium y a continuación se pulverizan sobre las plantas utilizando un pulverizador de pintura Preval. El tejido vegetal se recoge y se congela en nitrógeno líquido 48 horas después de la infección.

[0259] *Erysiphe orontii* es un agente causante del oídio. Para los experimentos con *Erysiphe orontii*, las plantas se desarrollan aproximadamente 4 semanas en un invernadero bajo 12 horas de luz (20°C, ~30% de humedad relativa (rh)). Hojas individuales se infectan con esporas de *E. orontii* de plantas infectadas utilizando un cepillo de pelo de camello y las plantas se transfieren a una cámara de crecimiento de Percival (20°C, 80% rh.). El tejido vegetal se recoge y se congela en nitrógeno líquido 7 días después de la infección.

[0260] *Botrytis cinerea* es un patógeno necrotrófico. Se desarrolla *Botrytis cinerea* en agar dextrosa de patata bajo 12 horas de luz (20°C, ~30% de humedad relativa (rh)). Se realiza un cultivo de esporas mediante la extensión de 10 ml de agua estéril en la placa de hongos, centrifugación y transferencia de esporas a 10 ml de agua estéril. A continuación, se utiliza el inóculo de esporas (aproximadamente 105 esporas/ml) para pulverizar semilleros de 10 días de vida desarrollados bajo condiciones estériles en medio MS (menos sacarosa). Los síntomas se evalúan cada día hasta aproximadamente 1 semana.

[0261] Se desarrollan cultivos de hifas de *Sclerotinia sclerotiorum* en caldo de dextrosa de patata. Se muele un gramo de hifa, se filtra, se centrifuga y se resuspende en agua estéril. Se utiliza una dilución 1:10 para pulverizar semilleros de 10 días de vida desarrolladas de forma aséptica bajo un régimen de 12 horas de luz/oscuridad en medio MS (menos sacarosa). Los síntomas se evalúan cada día hasta aproximadamente 1 semana.

[0262] Se inocularon a mano en dos dosis la cepa 4326 de *Pseudomonas syringae* pv maculicola (Psm) y la cepa de pv maculicola. Dos dosis de inoculación permiten la diferenciación entre plantas con una mayor susceptibilidad y plantas con una mayor resistencia con el patógeno. Las plantas se desarrollan durante 3 semanas en el invernadero, a continuación se transfieren a la cámara de crecimiento para el residuo del crecimiento. Psm ES4326 se puede inocular a mano con una jeringa de 1 ml en 3 hojas totalmente expandidas por planta (4 semanas y media) utilizando por lo menos 9 plantas por línea sobreexpresante en dos dosis de inoculación, DO=0,005 y DO=0,0005. La evaluación de la enfermedad se realiza en el día 3 después de la inoculación con las fotografías de las plantas y las hojas tomadas en paralelo.

[0263] En algunos casos, los patrones de expresión de los genes inducidos por patógenos (tales como genes de defensa) se pueden seguir por experimentos de micromatrices (microarray). En estos experimentos, los ADNc se generan por la PCR y se vuelven a suspender a una concentración final de ~100 ng/μl en 3x SSC o fosfato-Na 150 mM (Eisen y Brown (1999) Methods *Enzymol.* 303: 179-205). Los ADNc se aplican como manchas puntuales sobre portaobjetos de vidrio de microscopio recubiertos con polilisina. Los ADNc preparados se dividen en partes alícuotas en placas de 384 pocillos y se aplican como manchas puntuales sobre los portaobjetos usando, por ejemplo, una estructura de soporte x-y-z (OmniGrid) que se puede adquirir en (Menlo Park, CA) equipado con clavijas de tipo vaina que se pueden adquirir en Telechem International (Sunnyvale, CA). Después de la aplicación en manchas puntuales, las matrices se curan durante un mínimo de una semana a temperatura ambiente y, se rehidratan y se bloquean siguiendo el protocolo recomendado por Eisen y Brown (1999) supra.

[0264] Las muestras de ARN total (10 μg) se marcan usando colorantes de Cy3 y Cy5 fluorescentes. Las muestras marcadas se vuelven a suspender en 4X SSC/SDS al 0,03%/4 μg de ADN de esperma de salmón/2 μg de ARNt/pirofosfato de sodio 50 mM, se calientan a 95°C durante 2,5 min, se centrifugan y se ponen sobre la matriz. Después la matriz se cubre con un cubreobjetos de vidrio y se pone en una cámara herméticamente cerrada. Después la cámara se mantiene en un baño de agua a 62°C durante una noche. Las matrices se lavan como describen Eisen y Brown (1999), supra, y se escanean en un escáner láser General Scanning 3000. Los archivos resultantes posteriormente se cuantifican usando el software IMAGENE, (BioDiscovery, Los Angeles CA).

[0265] Se pueden llevar a cabo experimentos de RT-PCR para identificar aquellos genes inducidos después de exposición a patógenos fúngicos biotróficos, tales como *Erysiphe orontii*, patógenos fúngicos necrotrópicos, tales como *Fusarium oxysporum*, bacterias, virus y ácido salicílico, el último implicado en una respuesta de resistencia no específica en *Arabidopsis thaliana*. En general, se examinan los patrones de expresión de genes de tejidos foliares de plantas de suelo.

[0266] Se llevó a cabo la PCR con transcriptasa inversa usando cebadores específicos de gen con la región codificante de cada secuencia identificada. Los cebadores se diseñaron cerca de la región 3' de cada secuencia de unión al ADN identificada inicialmente.

- 5 **[0267]** Los ARN totales de estos tejidos foliares del suelo se aislaron usando los protocolos de extracción de CTAB. Una vez extraído, el ARN total se normalizó en concentración con todos los tipos de tejidos para asegurar que la reacción de la PCR para cada tejido recibía la misma cantidad de molde de ADNc usando la banda 28S como referencia. Se purificó el poli(A+) ARN usando un protocolo modificado del protocolo del lote del kit de purificación Qiagen OLIGOTEX. El ADNc se sintetizó usando protocolos estándar. Después de la síntesis de la primera cadena de ADNc, se usaron cebadores para actina 2 para normalizar la concentración de ADNc en todos los tipos de tejidos. Se encontró que la actina 2 es expresada de forma constitutiva en niveles bastante iguales en todos los tipos de tejidos que se investigan.
- 10 **[0268]** Para la RT-PCR, los moldes de ADNc se mezclaron con los cebadores correspondientes y la ADN polimerasa Taq. Cada reacción consistía en 0,2 µl de molde de ADNc, 2 µl de 10X tampón de Tricina, 2 µl de 10X tampón de Tricina y 16,8 µl de agua, 0,05 µl de cebador 1, 0,05 µl, de cebador 2, 0,3 µl de ADN polimerasa Taq y 8,6 µl de agua.
- 15 **[0269]** La placa de 96 pocillos se cubre con micropelícula y se pone en el termociclador para iniciar el ciclo de reacción. A modo de ilustración, el ciclo de reacción puede comprender las siguientes etapas:
- 20 ETAPA 1: 93°C durante 3 minutos;
 ETAPA 2: 93°C durante 30 segundos;
 ETAPA 3: 65°C durante 1 minuto;
 ETAPA 4: 72°C durante 2 minutos;
 Las ETAPAS 2, 3 y 4 se repiten durante 28 ciclos;
 ETAPA 5: 72°C durante 5 minutos; y
 ETAPA 6: 4°C.
- 25 **[0270]** Para amplificar más productos, por ejemplo, para identificar genes que tienen expresión muy baja, se pueden llevar a cabo etapas adicionales: el siguiente procedimiento ilustra un procedimiento que se puede usar en relación con esto; la placa de PCR se vuelve a poner en el termociclador durante 8 ciclos más de etapas 2-4.
- 30 ETAPA 2: 93°C durante 30 segundos;
 ETAPA 3: 65°C durante 1 minuto;
 ETAPA 4: 72°C durante 2 minutos, repetida 8 ciclos; y
 ETAPA 5: 4°C.
- 35 **[0271]** Se cargan 8 µl de producto de la PCR y 1,5 µl de colorante de carga en un gel de agarosa al 1,2% para el análisis después de 28 ciclos y 36 ciclos. Los niveles de expresión de transcritos específicos se consideran bajos si son detectables sólo después de 36 ciclos de PCR. Los niveles de expresión se consideran medios o altos dependiendo de los niveles de transcritos comparados con los niveles de transcritos observados para un control interno tal como la actina 2. Los niveles de transcritos se determinan en experimentos repetidos y se comparan con los niveles de transcritos en plantas de control (p. ej., no transformadas).
- 40 **[0272]** Los experimentos se realizaron para identificar aquellos transformantes o knockouts que mostraron una tolerancia mejorada la estrés medioambiental. Para dichos estudios, los transformantes se expusieron a un conjunto de situaciones estresantes medioambientales. Las plantas se expusieron a estrés por frío (6 horas de exposición a 4-8°C), estrés por calor (6 horas de exposición a 32-37°C), estrés pos concentración elevada de sal (6 horas de exposición a NaCl 200 mM), estrés por sequía (168 horas después de eliminar el agua de los accesos), estrés osmótico (6 horas de exposición a manitol 3 M) o limitación de nutrientes (nitrógeno, fósforo y potasio) (nitrógeno: todos los componentes del medio MS permanecieron constantes a excepción del N que se redujo hasta 20 mg/l de NH₄NO₃; fósforo: todos los componentes del medio MS a excepción de KH₂PO₄, que se sustituyó por K₂SO₄; potasio: todos los componentes del medio MS a excepción de la eliminación de KNO₃ y KH₂PO₄, que se sustituyeron por NaH₄PO₄).
- 45 **[0273]** Los experimentos se realizaron para identificar aquellos transformantes o knockouts que mostraron una estructura modificada y características de desarrollo. Para dichos estudios, se observaron los transformantes a simple vista para identificar características nuevas estructurales o desarrollo asociadas con la expresión ectópica de los polinucleótidos o polipéptidos de la invención.
- 50 **[0274]** El tiempo de floración se midió mediante el número de hojas de escarapela presentes cuando se observa una inflorescencia visible de aproximadamente 3 cm. El número hojas de escarapela y el total en el tallo de la progenie están estrechamente correlacionados con el ritmo de floración (Koornneef et al. (1991) Mol. Gen. Genet. 229: 57-66). También se midió la respuesta de vernalización. Para los tratamientos de vernalización, se sembraron las semillas en placas agar MS, se sellaron con cinta de microporos y se colocaron en una habitación fría a 4°C con niveles bajos de luz durante 6-8 semanas. A continuación, las placas se transfirieron a las habitaciones de crecimiento al lado de placas que contenían controles no vernalizados recién sembrados. Se contaron las hojas de escarapela cuando se observó una inflorescencia visible de aproximadamente 3 cm.
- 60 **[0274]** El tiempo de floración se midió mediante el número de hojas de escarapela presentes cuando se observa una inflorescencia visible de aproximadamente 3 cm.
- 65

[0275] Los fenotipos modificados observados para plantas sobreexpresantes particulares o knockout se proporcionan en la tabla 4. Para una sobreexpresante particular que muestra una característica menos beneficiosa, puede ser más útil seleccionar una planta con una expresión disminuida del factor de transcripción particular. Para un knockout particular que muestra una característica menos beneficiosa, puede ser más útil seleccionar una planta con una expresión incrementada del factor de transcripción particular.

[0276] Las secuencias del listado de secuencias o aquellas de las tablas Tables 4 - 9, o aquellas descritas aquí, se pueden utilizar para preparar plantas transgénicas y plantas con rasgos alterados. Las plantas transgénicas específicas indicadas a continuación se producen a partir de secuencias del listado de secuencias tal como se indica. Las tablas 4 y 6 proporcionan secuencias de polinucleótidos y polipéptidos de ejemplo de la invención.

Ejemplo VIII: Ejemplo de genes que confieren mejoras significativas a las plantas

[0277] Ejemplos de genes u homólogos que confieren mejoras significativas a plantas knockout o sobreexpresantes se indican a continuación. También se presentan las observaciones experimentales realizadas por nosotros con respecto a genes específicos cuya expresión se ha modificado en plantas sobreexpresantes o knockout y las potenciales aplicaciones en base a estas observaciones.

[0278] Este ejemplo proporciona evidencia experimental para el incremento de la biomasa y tolerancia al estrés abiótico controlados por los polipéptidos del factor de transcripción y los polipéptidos de la invención.

[0279] Los ensayos de estrés salino pretenden encontrar genes que confirieran mejores germinación, vigor de las plántulas o crecimiento en concentración salina alta. La evaporación desde la superficie del suelo produce el movimiento del agua hacia arriba y la acumulación de sal en la capa superior del suelo donde se ponen las semillas. Por lo tanto, normalmente la germinación se produce con una concentración salina mucho más alta que la concentración salina media del perfil de todo el suelo. Las plantas difieren en su tolerancia al NaCl dependiendo de la etapa de desarrollo, por lo tanto se evalúan las respuestas en la germinación de la semilla, vigor de la plántula, y crecimiento de la planta.

[0280] Los ensayos de estrés osmótico (incluyendo ensayos de NaCl y manitol) pretenden determinar si un fenotipo de estrés osmótico es específico de NaCl o es un fenotipo de estrés osmótico general. Las plantas tolerantes al estrés osmótico podrían haber tenido también mayor tolerancia a la sequía y/o helada.

[0281] Los ensayos de sequía pretenden encontrar genes que medien en la mejor supervivencia de las plantas después de la privación severa de agua a corto plazo. Se medirá, si es necesario, la pérdida de iones. La tolerancia al estrés osmótico también apoyaría un fenotipo tolerante a la sequía.

[0282] Los ensayos de estrés por temperatura pretenden descubrir genes que conferirían una mejor germinación, vigor a las plántulas o crecimiento de las plantas en condiciones de estrés por temperatura (frío, helada y calor).

[0283] Los ensayos de sensibilidad a los azúcares pretenden encontrar genes implicados en la sensibilización a azúcares mediante la germinación de semillas en concentraciones elevadas de sacarosa y glucosa y la búsqueda de grados de alargamiento de hipocótilo. El ensayo de germinación en controles de manitol para respuestas relacionadas con el estrés osmótico. Los azúcares son moléculas reguladoras claves que afectan a diversos procesos en plantas superiores, incluyendo la germinación, crecimiento, floración, senescencia, metabolismo de los azúcares y fotosíntesis. La sacarosa es la forma de transporte principal de fotosintato y su flujo a través de las células se ha observado que afecta a la expresión génica y altera la acumulación de compuestos de almacenamiento en las semillas (relaciones fuente-sumidero). También se ha descrito la sensibilización a hexosa específica de glucosa en plantas y está implicada en la división celular y la represión de genes "hambrunos" (ciclos fotosintéticos o de glioxilato).

[0284] Los ensayos de germinación siguieron las modificaciones del mismo protocolo básico. Se sembraron semillas estériles en los medios condicionados listados a continuación. Las placas se incubaron a 22°C con 24 h de luz (120-130 $\mu\text{Ein}/\text{m}^2/\text{s}$) en una cámara de crecimiento. La evaluación de la germinación y el vigor de las plántulas se llevó a cabo de 3 a 15 días después de plantarlas. El medio basal era medio Murashige-Skoog al 80% (MS) + vitaminas.

[0285] Para los experimentos de germinación para el estrés salino y osmótico, el medio se complementó con NaCl 150 mM o manitol 300 mM. Se llevaron a cabo ensayos de sensibilidad de reguladores del crecimiento en medio MS, vitaminas y, o bien ABA 0,3 μM , sacarosa al 9,4%, o bien glucosa al 5%.

[0286] Los experimentos de germinación en frío para el estrés por temperatura se llevaron a cabo a 8°C. Los experimentos de germinación para el estrés por calor se llevaron a cabo de 32°C a 37°C durante 6 h de exposición.

[0287] Para los experimentos de estrés llevados a cabo con plantas más maduras, las semillas se germinaron y cultivaron durante varios días en MS + vitaminas + sacarosa al 1% a 22°C y después se transfirieron a condiciones

de estrés por frío y calor. Las plantas se expusieron o bien a estrés por frío (exposición de 6 h a 4-8°C) o a estrés por calor (se aplicaron 32°C durante 5 días), después de lo cual las plantas se volvieron a transferir a 22°C para la recuperación y se evaluaron 5 días después con respecto a los controles que no se habían expuesto a temperatura reducida o elevada.

5

Información publicada

[0288] G1988 (At3g21150) está en el clon P1 MSA6 (número de acceso de GenBank AP000604) y se identificó en base a su similitud de secuencia en el dominio conservado con otras proteínas relacionadas similares a CONSTANS en *Arabidopsis*. No existe información publicada o pública sobre la función de G1988.

10

Observaciones experimentales.

[0289] La función de G1988 se estudió utilizando plantas transgénicas en las que el gen se expresó bajo el control del promotor 35S. La evidencia de los ensayos fisiológicos y morfológicos indican que G1988 puede jugar un papel en los procesos de desarrollo regulados por la luz; los semilleros de 35S::G1988 mostraron hipocótilos más largos, peciolo alargados, y un conjunto de líneas florecidas de forma temprana.

15

[0290] Cuando se desarrollaron en fósforo limitado, todas las líneas aparecieron más grandes y presentaban un mayor crecimiento de las raíces que los controles. Los semilleros germinados en placas que contenían nitrógeno limitado (suplementado con glutamina) aparecieron menos estresados que los controles.

20

Utilidades

[0291] En base a los resultados de los ensayos fisiológicos, G1988 podría utilizarse para diseñar plantas que muestran un crecimiento mejorado y una supervivencia en medios bajos en nutrientes.

25

[0292] G1988 también podría tener un papel en la modulación de procesos del desarrollo regulados por la luz, tales como evitar la sombra. La eliminación de las respuestas a la sombra podría conducir a densidades de plantación incrementadas con el consecuente aumento de la producción. El gen también podría ser útil en la manipulación del tiempo de floración.

30

Ejemplo IX: Identificación de secuencias homólogas

[0293] Este ejemplo describe la identificación de genes que son ortólogos a los factores de transcripción de *Arabidopsis thaliana* a partir de una búsqueda de homología por ordenador.

35

[0294] Las secuencias homólogas, incluyendo las de parálogos y ortólogos de *Arabidopsis* y otras especies de plantas, se identificaron usando herramientas de búsqueda de secuencias en bases de datos, tales como la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (Altschul y col. (1990) supra; y Altschul y col. (1997) *Nucleic Acid Res.* 25: 3389-3402). Los programas de análisis de secuencias tblastx se usaron con la matriz de puntuación BLOSUM-62 (Henikoff y Henikoff (1992) *Proc Natl. Acad Sci.* 89: 10915-10919). Se filtró la base de datos de NCBI GenBank entera para buscar secuencias de todas las plantas excepto de *Arabidopsis thaliana* seleccionando todas las entradas en la base de datos NCBI GenBank asociadas con el ID taxonómico de NCBI 33090 (Viridiplantae; todas las plantas) y excluyendo las entradas asociadas con el ID taxonómico 3701 (*Arabidopsis thaliana*).

40

45

[0295] Estas secuencias se comparan con secuencias que representan genes de la lista de secuencias, usando el algoritmo TBLASTX de la Universidad de Washington (versión 2.0a19MP) con los parámetros por defecto usando los alineamientos incompletos con el filtro "apagado". Para cada una de estas secuencias de genes, se ordenaron comparaciones individuales por puntuaciones de probabilidad (valor P), donde las puntuaciones reflejan la probabilidad de que se produzca un alineamiento particular al azar. Por ejemplo, una puntuación de 3,6E-40 es 3,6 x 10-40. Además de los valores P, también se puntuaron las comparaciones por el porcentaje de identidad. El porcentaje de identidad refleja el grado con el que dos segmentos de ADN o proteínas son idénticos a lo largo de una longitud particular. Los ejemplos de secuencias identificadas de esta forma se presentan en las tablas 7 y 9. Las secuencias parálogas u ortólogas se identificaron fácilmente a partir de bases de datos privadas y de GenBank. El porcentaje de identidad de secuencias entre estas secuencias puede ser tan bajo como 47%, o incluso una identidad de secuencia menor.

50

55

[0296] Las secuencias parálogas candidatas se identificaron entre factores de transcripción de *Arabidopsis* por el alineamiento, identidad y relaciones filogenéticas. Se identificaron secuencias ortólogas candidatas del conjunto de la base de datos de Unigene de marca registrada de secuencias de genes de plantas en *Zea mays*, *Glycine max* y *Oryza sativa*, basándose en la homología significativa con los factores de transcripción de *Arabidopsis*. Estos candidatos se compararon recíprocamente con el conjunto de factores de transcripción de *Arabidopsis*. Si el candidato mostraba una similitud máxima en el dominio de proteína con el factor de transcripción que se provocaba o con un parólogo del factor de transcripción que se provocaba, entonces se consideraba que era un ortólogo. Las

60

65

secuencias que no eran de *Arabidopsis* que se mostró de esta forma que eran ortólogas a las secuencias de *Arabidopsis* se proporcionan en la tabla 6.

Ejemplo X. Cribado de biblioteca de ADNc de planta para la secuencia que codifica el dominio de unión al ADN del factor de transcripción que se une a un elemento promotor de unión al factor de transcripción y demostración de la actividad reguladora de transcripción de la proteína

[0297] Se usa la estrategia de “un híbrido” (Li y Herskowitz (1993) *Science* 262:1870-1874) para cribar clones de ADNc de planta que codifican un polipéptido que comprende un dominio de unión al ADN del factor de transcripción, un dominio conservado. Brevemente, se construyen cepas de levadura que contienen un gen indicador lacZ con las secuencias del elemento promotor de unión del factor de transcripción tipo salvaje o mutante en lugar de la UAS normal (secuencia activadora en dirección 5') del promotor GALA. Se construyen cepas indicadoras de levadura que llevan las secuencias del elemento promotor de unión del factor de transcripción como elementos UAS que están operativamente unidos en dirección 5' de un gen indicador lacZ con un promotor GAL4 mínimo. Las cepas se transforman con una biblioteca de expresión de planta que contiene insertos de ADNc aleatorios fusionados con el dominio de activación de GALA (GAL4-ACT) y se criban las formaciones de colonias azules en filtros tratados con X-gal (X-gal: 5-bromo-4-cloro-3-indolil- β -D-galactosida; Invitrogen Corporation. Carlsbad CA). Alternativamente, las cepas se transformaron con un polinucleótido de ADNc que codifica una secuencia de polipéptido de dominio de unión al ADN de factor de transcripción conocida.

[0298] Las cepas de levadura que llevan estas construcciones indicadoras producen niveles bajos de β -galactosidasa y forman colonias blancas en los filtros que contienen X-gal. Las cepas indicadoras que llevan las secuencias del elemento promotor de unión del factor de transcripción tipo salvaje se transforman con un polinucleótido que codifica un polipéptido que comprende un dominio de unión al ADN de factores de transcripción de planta operativamente unidos a un dominio activador ácido del factor de transcripción GAL4 de levadura, “GAL4-ACT”. Los clones que contienen un polinucleótido que codifica un dominio de unión al ADN de factor de transcripción operativamente unido a GAL4-ACT pueden unirse en dirección 5' de los genes indicadores lacZ que llevan la secuencia del elemento promotor de unión del factor de transcripción tipo salvaje, activar la transcripción del gen lacZ y dar como resultado levaduras que forman colonias azules en los filtros tratados con X-gal.

[0299] Tras el cribado de aproximadamente 2×10^6 transformantes de levadura, se aíslan clones de ADNc positivos; es decir, clones que hacen que cepas de levaduras que llevan los indicadores lacZ operativamente unidos a elementos promotores de unión de factores de transcripción tipo salvaje formen colonias azules en filtros tratados con X-gal. Los clones de ADNc no hacen que una cepa de levaduras que lleva elementos promotores de unión de factor de transcripción de tipo mutante fusionados con LacZ se vuelva azul. Por lo tanto, se muestra que un polinucleótido que codifica el dominio de unión al ADN de factor de transcripción, un dominio conservado, activa la transcripción de un gen.

Ejemplo XI: Ensayos de desplazamiento en gel.

[0300] La presencia de un factor de transcripción que comprende un dominio de unión al ADN que se une a un elemento de unión al ADN del factor de transcripción se evalúa usando el siguiente ensayo de desplazamiento en gel. El factor de transcripción se expresa de forma recombinante y se aísla de *E. coli* o se aísla de un material de planta. La proteína soluble total, que incluye el factor de transcripción, (40 ng) se incuba a temperatura ambiente en 10 μ l de 1x tampón de unión (HEPES 15 mM (pH 7,9), EDTA 1 mM, KCl 30 mM, glicerol al 5%, albúmina de suero bovino al 5%, DTT 1 mM) más 50 ng poli(dI-dC):poli(dI-dC) (Pharmacia, Piscataway NJ) con o sin 100 ng de ADN competidor. Después de 10 minutos de incubación, se añade un ADN sonda que comprende un elemento de unión al ADN del factor de transcripción (1 ng) que se ha marcado con 32 P mediante carga en el extremo (Sambrook y col. supra) y la mezcla se incuba durante 10 minutos adicionales. Las muestras se cargan en geles de poli(acrilamida) (al 4% en p/v) y se fraccionan por electroforesis a 150 V durante 2 h (Sambrook y col. supra). El grado de unión del factor de transcripción-ADN sonda se visualiza mediante autorradiografía. Las sondas y ADN competidores se preparan a partir de insertos oligonucleótidos ligados en un sitio BamHI de pUC118 (Vieira y col. (1987) *Methods Enzymol.* 153: 3-11). La orientación y el número de concatenaciones de insertos se determinan mediante análisis de secuencia de ADN por el procedimiento dideoxi (Sambrook y col. supra). Los insertos se recuperan después de digestión con enzimas de restricción con EcoRI y HindIII y se fraccionan en geles de poli(acrilamida) (al 12% en p/v) (Sambrook y col. supra).

Ejemplo XII. Introducción de polinucleótidos en plantas dicotiledóneas

[0301] Cualquiera de las secuencias de factores de transcripción listadas en la Lista de Secuencias y secuencias parálogas y ortólogas, se puede recombinar en vectores de expresión pMEN20 o pMEN65 y a continuación transformar en una planta con el propósito de modificar rasgos de la planta. El vector de clonación se puede introducir en una variedad de plantas de cereales mediante medios bien conocidos en la técnica tales como, por ejemplo, la transferencia de ADN directa o transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Ahora es rutinario producir plantas transgénicas usando la mayoría de las plantas dicotiledóneas (véase Weissbach y Weissbach, (1989) supra; Gelvin y col. (1990) supra; Herrera-Estrella y col. (1983) supra; Bevan (1984) supra; y Klee

(1985) supra). Los procedimientos de análisis de rasgos son rutinarios en la técnica y se han descritos ejemplos antes.

Ejemplo XIII: Transformación de plantas de cereales con un vector de expresión

[0302] Las plantas de cereales tales como, pero sin limitar, maíz, trigo, arroz, sorgo o cebada, se pueden también transformar con las presentes secuencias de polinucleótidos en los vectores de expresión pMEN20 o pMEN65 con el propósito de modificar rasgos de la planta. Por ejemplo, pMEN020 se puede modificar para sustituir la región codificante NptII con el gen BAR de *Streptomyces hygrosopicus* que confiere resistencia a la fosfotricina. Los sitios KpnI y BglII del gen Bar se eliminan mediante mutagénesis dirigida con cambios de codones silenciosos.

[0303] El vector de clonación se puede introducir en una variedad de plantas de cereales por medios bien conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, la transferencia directa de ADN o transformación mediada por *Agrobacterium tumefaciens*. Actualmente es habitual producir plantas transgénicas de la mayoría de cultivos de cereales (Vasil (1994) *Plant Mol. Biol.* 25: 925-937) tales como maíz, trigo, arroz, sorgo (Cassas y col. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 11212-11216, y cebada (Wan y Lemeaux (1994) *Plant Physiol.* 104:37-48). Los procedimientos de transferencia de ADN tales como el procedimiento de microproyectiles se pueden usar para el maíz (Fromm y col. (1990) *Bio/Technol.* 8: 833-839; Gordon-Kamm y col. (1990) *Plant Cell* 2: 603-618; Ishida (1990) *Nature Biotechnol.* 14:745-750), trigo (Vasil y col. (1992) *Bio/Technol.* 10:667-674; Vasil y col. (1993) *Bio/Technol.* 11:1553-1558; Weeks y col. (1993) *Plant Physiol.* 102:1077-1084), arroz (Christou (1991) *Bio/Technol.* 9:957-962; Hiei y col. (1994) *Plant J.* 6:271-282; Aldemita y Hodges (1996) *Planta* 199:612-617; y Hiei y col. (1997) *Plant Mol. Biol.* 35:205-218). Para la mayoría de las plantas de cereales, las células embrionarias derivadas de los tejidos escutelares inmaduros son las dianas celulares preferidas para la transformación (Hiei y col. (1997) *Plant Mol. Biol.* 35:205-218; Vasil (1994) *Plant Mol. Biol.* 25: 925-937).

[0304] Los vectores según la presente invención se pueden transformar en células embrionarias de maíz derivadas de tejido escutelar inmaduro mediante la utilización del bombardeo de microproyectiles, como el genotipo A188XB73 como genotipo preferido (Fromm et al. (1990) *Bio/Technol.* 8: 833-839; Gordon-Kamm et al. (1990) *Plant Cell* 2: 603-618). Después del bombardeo de microproyectiles, los tejidos se seleccionan en fosfotricina para identificar las células embrionarias transgénicas (Gordon-Kamm et al. (1990) *Plant Cell* 2: 603-618). Las plantas transgénicas se regeneran mediante técnicas de regeneración de maíz estándar (Fromm et al. (1990) *Bio/Technol.* 8: 833-839; Gordon-Kamm et al. (1990) *Plant Cell* 2: 603-618).

[0305] Los plásmidos preparados tal como se ha descrito anteriormente también se pueden utilizar para producir plantas transgénicas de trigo y arroz (Christou (1991) *Bio/Technol.* 9:957-962; Hiei et al. (1994) *Plant J.* 6:271-282; Aldemita y Hodges (1996) *Planta* 199: 612-617; y Hiei et al. (1997) *Plant Mol. Biol.* 35:205-218) que expresan coordinadamente genes de interés mediante los siguientes protocolos de transformación estándar conocidos por los expertos en la materia para el arroz y el trigo (Vasil et al. (1992) *Bio/Technol.* 10:667-674; Vasil et al. (1993) *Bio/Technol.* 11:1553-1558; and Weeks et al. (1993) *Plant Physiol.* 102:1077-1084), donde el gen bar se utiliza como marcador seleccionable.

Ejemplo de referencia XIV: Identificación de secuencias ortólogas y parálogas

[0306] Los ortólogos de genes de *Arabidopsis* se pueden identificar por varios procedimientos, incluyendo la amplificación por hibridación o por procedimientos bioinformáticos. Este ejemplo describe cómo se pueden identificar homólogos del factor de transcripción CBF1 (polinucleótido SEQ ID No. 2238, polipéptido codificado: SEQ ID No: 2239) de la familia AP2 de *Arabidopsis*, que confieren tolerancia a estreses abióticos (Thomashow y col. (2002) patente de EE.UU. n° 6.417.428), y un ejemplo para confirmar la función de secuencias homólogas. En este ejemplo se encontraron ortólogos de CBF1 en la canola (*Brassica napus*) usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

[0307] Se designaron cebadores degenerados para las regiones del dominio de unión AP2 y fuera del AP2 (dominio carboxi terminal patente de EE.UU. n° 6.417.428):

Mol 368 (inverso) 5'- CAY CCN ATH TAY MGN GGN GT -3' (SEQ ID No: 2246)

Mol 378 (directo) 5'- GGN ARN ARC ATN CCY TCN GCC -3' (SEQ ID No: 2247)

(Y: C/T, N: A/C/G/T, H: A/C/T, M: A/C, R: A/G)

[0308] El cebador Mol 368 está en el dominio de unión AP2 de CBF1 (secuencia de aminoácidos: His-Pro-Ile-Tyr-Arg-Gly-Val) mientras que el cebador Mol 378 está fuera del dominio AP2. (dominio carboxilo terminal) (secuencia de aminoácidos: Met-Ala-Glu-Gly- Met-Leu-Leu-Pro).

[0309] El ADN genómico aislado de *B. napus* se amplificó usando estos cebadores siguiendo estas condiciones: una etapa de desnaturalización de 2 min a 93°C; 35 ciclos de 93°C durante 1 min, 55°C durante 1 min, y 72°C durante 1 min; y una incubación final de 7 min a 72°C al final de los ciclos.

5 [0310] Los productos de la PCR se separaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1,2% y se transfirieron a membranas de nailon y se hibridaron con la sonda AT CBF1 preparada a partir de ADN genómico de *Arabidopsis* por amplificación por la PCR. Los productos hibridados se visualizaron mediante un sistema de detección colorimétrico (Boehringer Mannheim) y las correspondientes bandas de un gel de agarosa similar se aislaron usando el kit de extracción de Qiagen (Qiagen). Los fragmentos de ADN se ligaron en el vector clon TA del kit de clonación TOPO TA (Invitrogen) y se transformaron en la cepa de *E. coli* TOP10 (Invitrogen).

10 [0311] Se recogieron 7 colonias y los insertos se secuenciaron en un aparato ABI 377 a partir de ambas cadenas de sentido directo y sentido contrario después de aislar los plásmidos de ADN. La secuencia de ADN se editó mediante el secuenciador y se alineó con AtCBF1 con el software GCG y la búsqueda con Blast de NCBI.

15 [0312] La secuencia de ácido nucleico y las secuencias de aminoácidos de un ortólogo de canola encontrado de esta forma (bnCBF1; polinucleótido SEQ ID No. 2244 y polipéptido SEQ ID No: 2245) identificado por este procedimiento, se muestra en la Lista de Secuencias.

20 [0313] Las secuencias de aminoácidos alineadas muestran que el gen bnCBF1 tiene una identidad de 88% con la secuencia de *Arabidopsis* en la región del dominio AP2 y una identidad de 85% con la secuencia de *Arabidopsis* fuera del dominio AP2 cuando se alinean para dos secuencias de inserción que están fuera del dominio AP2.

25 [0314] De forma similar, también se pueden identificar las secuencias parálogas de los genes de *Arabidopsis*, tales como *CBF1*.

[0315] Se han clonado dos parálogos de CBF1 de *Arabidopsis thaliana*: *CBF2* y *CBF3*. *CBF2* y *CBF3* se han clonado y secuenciado como se describe a continuación. Las secuencias de ADN SEQ ID No. 2240 y 2242 y las proteínas codificadas: SEQ ID No: 2241 y 2243 se establecen en el Listado de Secuencias.

30 [0316] Se cribaron en una biblioteca de ADNc lambda preparada a partir de ARN aislado de *Arabidopsis thaliana* ecotipo Columbia (Lin y Thomashow (1992) *Plant Physiol.* 99: 519-525) los clones recombinantes que llevaban insertos relacionados con el gen *CBF1* (Stockinger y col. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94: 1035-1040). *CBF1* se radiomarcó con ³²P por cebado aleatorio (Sambrook y col. *supra*) y se usó para cribar una biblioteca mediante la técnica de placa elevada usando condiciones de hibridación y lavado rigurosas (Hajela y col. (1990) *Plant Physiol.* 93:1246-1252; Sambrook y col. *supra*, 6 X tampón SSPE, 60°C para la hibridación y 0,1 X tampón SSPE y 60°C para los lavados). Se obtuvieron 12 clones de hibridación positivos y se determinaron las secuencias de ADN de los insertos de ADNc. Los resultados indican que los clones entran en 3 clases. Una clase lleva insertos que corresponden a *CBF1*. Las otras dos clases llevan secuencias que corresponden a dos homólogos diferentes de *CBF1*, denominados *CBF2* y *CBF3*. Las secuencias de ácidos nucleicos y secuencias que codifican la proteína predicha para *CBF1*, *CBF2*, *CBF3* de *Arabidopsis* se indican en el Listado de Secuencias (SEQ ID No: 2238, 2240, 2242 y SEQ ID No: 2239, 2241 y 2243, respectivamente). Las secuencias de ácidos nucleicos y secuencias que codifican la proteína predicha para *CBF* ortólogo de *Brassica napus* se lista en el Listado de Secuencias (SEQ ID No: 2244 y 2245, respectivamente).

45 [0317] Una comparación de las secuencias de ácidos nucleicos de *CBF1*, *CBF2* y *CBF3* de *Arabidopsis* indica que son de 83 a 85% idénticas como se muestran en la tabla 11.

TABLA 11

50

	Porcentaje de identidad ^a	
	ADN ^b	Polipéptido
cbf1/cbf2	85	86
cbf1/cbf3	83	84
cbf2/cbf3	84	85
^a El porcentaje de identidad se determinó usando el algoritmo Clustal del programa MEGALIGN (DNASTAR, Inc.).		
^b Se muestran las comparaciones de las secuencias de ácidos nucleicos de los marcos de lectura abiertos		

[0318] De forma similar, las secuencias de aminoácidos de los 3 polipéptidos CBP están en el intervalo de identidad de 84 a 86%. Un alineamiento de las 3 secuencias de aminoácidos pone de manifiesto que la mayoría de las diferencias en la secuencia de aminoácidos se producen en la mitad C-terminal ácida del polipéptido. Esta región de *CBF1* sirve como dominio de activación tanto en levaduras como en *Arabidopsis* (no se muestra).

55

[0319] Los residuos 47 a 106 de CBF1 corresponden al dominio AP2 de la proteína, un patrón de unión al ADN que, hasta la fecha, sólo se había encontrado en proteínas de plantas. Una comparación de los dominios AP2 de CBF1, CBF2 y CBF3 indica que hay algunas diferencias en la secuencia de aminoácidos. Estas diferencias en la secuencia de aminoácidos pueden tener un efecto en la especificidad de unión al ADN.

Ejemplo de referencia XV: Transformación de canola con un plásmido que contiene CBF1, CBF2 o CBF3

[0320] Después de identificar los genes homólogos de CHF1, la canola se transformó con un plásmido que contenía los genes CBF1, CBF2 o CBF3 de *Arabidopsis* clonados en el vector pGA643 (An (1987) *Methods Enzymol.* 253: 292). En estas construcciones, los genes CBF se expresaban de forma constitutiva bajo el promotor 35S de CaMV, además, el gen CBF1 se clonó bajo los controles del promotor COR15 de *Arabidopsis* en el mismo vector pGA643. Cada construcción se transformó en la cepa de *Agrobacterium* GV3101. Las agrobacterias transformadas se cultivaron durante 2 días en medio AB mínimo que contenía los antibióticos adecuados.

[0321] La canola de primavera (*B. napus* variedad cultivada Westar) se transformó usando el protocolo de Moloney y col. ((1989) *Plant Cell Reports* 8: 238) con algunas modificaciones como se describe. Brevemente, las semillas se esterilizaron y se cultivaron en placa en medio MS de media concentración, que contenía sacarosa al 1%. Las placas se cultivaron a 24°C con luz de 60-80 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ usando un periodo de iluminación de 16 horas de luz/8 horas de oscuridad. Los cotiledones de las plántulas de 4-5 días de edad se recogieron, se cortaron los peciolos y se sumergieron en disolución de *Agrobacterium*. Los cotiledones sumergidos se pusieron en medio de cultivo simultáneo con una densidad de 20 cotiledones/placa y se incubaron como se ha descrito antes durante 3 días. Los explantes se transfirieron al mismo medio, pero que contenía 300 mg/l de timentina (SmithKline Beecham, PA) y se redujeron a 10 cotiledones/placa. Después de 7 días, los explantes se transfirieron a medio de selección/regeneración. Las transferencias se continuaron cada 2-3 semanas (2 o 3 veces) hasta que se desarrollaron los brotes. Los brotes se transfirieron a medio de brote-alargamiento cada 2-3 semanas. Los lotes que tenían un aspecto sano se transfirieron a medio de enraizamiento. Una vez que se desarrollaron raíces buenas, las plantas se plantaron en suelo para macetas húmedo.

[0322] Después se analizó en las plantas transformadas la presencia del gen NPTII/resistencia a la kanamicina mediante ELISA, usando el kit de ELISA NPTII de 5Prime-3Prime Inc. (Boulder, CO). Aproximadamente 70% de las plantas cribadas eran positivas para NPTII. Solamente estas plantas se siguieron analizando.

[0323] Los análisis de transferencia Northern de las plantas que se transformaron con las construcciones de expresión constitutiva mostraron expresión de los genes CBF y todos los genes CBF fueron capaces de inducir el gen BN115 regulado por el frío de *Brassica napus* (homólogo del gen COR15 de *Arabidopsis*). La mayor parte de las plantas transgénicas presentaron un fenotipo de crecimiento normal. Como se esperaba, las plantas transgénicas son más tolerantes a la helada que las plantas tipo salvaje. Usando el ensayo de pérdida de electrolitos de las hojas, el control mostró una pérdida de 50% de -2 a -3°C . La canola de primavera transformada como CBF1 o CBF2 mostró una pérdida de 30% de -6 a -7°C . La canola de primavera transformadas con CBF3 mostró una pérdida de 50% de aproximadamente -10 a -15°C . La canola de invierno transformada con CBF3 puede presentar una pérdida de 50% de aproximadamente -16°C a -20°C . Además, si la canola de primavera o invierno se aclimatan al frío, las plantas transformadas pueden presentar una mayor aumento de la tolerancia a la helada de por lo menos -2°C .

[0324] Para ensayar la tolerancia a la salinidad de las plantas transformadas, las plantas se regaron con NaCl 150 mM. Las plantas que expresaban en exceso CBF1, CBF2 o CBF3 crecieron mejor comparadas con las plantas que no se habían transformado con CBF1, CBF2 o CBF3.

[0325] Estos resultados demuestran que los homólogos de factores de transcripción de *Arabidopsis* se pueden identificar y se muestra que confieren funciones similares en especies de plantas que no son *Arabidopsis*.

Ejemplo de referencia XVI: Clonación de promotores de factores de transcripción

[0326] Los promotores se aislaron de genes de factores de transcripción que tienen patrones de expresión de genes útiles para una serie de aplicaciones, determinadas por los procedimientos bien conocidos en la técnica (incluyendo el análisis del perfil de transcritos con micromatrices de ADNc u oligonucleótidos, análisis de transferencia Northern, RT-PCR semicuantitativa o cuantitativa). Se ponen de manifiesto perfiles de expresión de genes interesantes determinando la abundancia de transcritos para un gen de factor de transcripción seleccionado, después de la exposición de las plantas a una serie de condiciones experimentales diferentes, y en una serie de tejidos o tipos de órganos diferentes, o etapas del desarrollo. Las condiciones experimentales a las que se exponen las plantas para este propósito incluyen frío, calor, sequía, estimulación osmótica, concentraciones de hormonas diferentes (ABA, GA, auxina, citoquinina, ácido salicílico, brasinoesteroide), estimulación con patógenos y plagas. Los tipos de tejidos y que etapas del desarrollo incluyen tallo, raíz, flor, hojas en roseta, hojas caulinares, silicuas, semillas en germinación y meristema. El conjunto de niveles de expresión proporciona un patrón que se determina mediante el elemento regulador del promotor génico.

[0327] Los promotores de factores de transcripción para los genes descritos en el presente documento se obtienen mediante clonación de 1,5 kb a 2,0 kb de secuencia genómica inmediatamente en la dirección 5' del codón de inicio de la traducción para la secuencia codificante de la proteína del factor de transcripción codificado. Esta región incluye la 5'-UTR del gen del factor de transcripción, que puede comprender elementos reguladores. La región de 1,5 kb a 2,0 kb se clona por procedimientos de PCR, usando cebadores que incluyen uno en la dirección 3' situado en el codón de inicio de la traducción (incluyendo una secuencia adaptadora adecuada), y otro en la dirección 5' situado a partir de 1,5 kb a 2,0 kb en la dirección 5' del condón de inicio de la traducción (incluyendo una secuencia adaptadora adecuada). Los fragmentos deseados se amplificaron por la PCR a partir del ADN genómico de *Arabidopsis* Col-0 usando ADN polimerasa Taq de alta fidelidad para minimizar la incorporación de mutación o mutaciones puntuales. Los cebadores de clonación incorporan dos sitios de restricción raros, tales como NotI y Sfi1, encontrados con frecuencia baja en el genoma de *Arabidopsis*. Se usan sitios de restricción adicionales en los casos en los que está presente un sitio de restricción NotI o Sfi1 dentro del promotor.

[0328] El fragmento de 1,5-2,0 kb en la dirección 5' desde el codón de inicio de la traducción, incluyendo la región 5' no traducida del factor de transcripción, se clona en un vector de transformación binario inmediatamente en la dirección 5' de un gen indicador adecuado, o un gen transactivador que es capaz de programar la expresión de un gen indicador en una segunda construcción génica. Los genes indicadores usados incluyen la proteína fluorescente verde (y variantes de color de la proteína fluorescente verde), β -glucuronidasa y luciferasa. Los genes transactivadores adecuados incluyen LexA-GAL4, junto con un indicador transactivable en un segundo plásmido binario (como se describe en la solicitud de patente de EE.UU. 09/958.131, incorporada en el presente documento por referencia). El o los plásmidos binarios se transfieren a *Agrobacterium* y la estructura del plásmido se confirma por PCR. Estas cepas se introducen en plantas de *Arabidopsis* como se describe en otros ejemplos, y los patrones de expresión de genes se determinan de acuerdo con procedimientos estándar conocidos para el experto en la materia, para el seguimiento de la fluorescencia de la GFP, actividad de β -glucuronidasa, o luminiscencia.

[0329] La región promotora para G1753 se obtiene del clon F1011 (AC006919) del cromosoma 2 de *Arabidopsis*, gen At2g36450, desde la posición 43906-45410 del clon genómico. El complemento de esta secuencia es el promotor orientado en la dirección 5'-3', con el codón de inicio de la traducción para G1753 el complemento de las posiciones 43903-43905.

[0330] La presente invención no está limitada por las realizaciones específicas descritas en el presente documento.

LISTADO DE SECUENCIAS

[0331]

<110> Mendel Biotechnology, Inc.

<120> Poinucleótidos y polipéptidos en plantas

<130> AHB/FP6293542

<140> EP 10178358.7

<141> 2003-09-18

<150> EP 03779082.1

<151> 2003-09-18

<150> PCT/US2003/030292

<151> 2003-09-18

<150> US 60/411,837

<151> 2002-09-18

<150> US 60/434,166

<151> 2002-12-17

<150> US 60/465,809

<151> 2003-04-24

<160> 2247

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 0

<212> ADN

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1

000

<210> 2

<211> 0

<212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 2

000

<210> 3

<211> 0

<212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 3
 000
 5 <210> 4
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 4
 10 000
 <210> 5
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 5
 000
 <210> 6
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 6
 000
 <210> 7
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 7
 000
 <210> 8
 30 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 8
 000
 35 <210> 9
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 9
 40 000
 <210> 10
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 10
 000
 <210> 11
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 11
 000
 <210> 12
 <211> 0
 55 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 12
 000
 <210> 13
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 13
 000
 65 <210> 14
 <211> 0

<212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 14
 000
 5 <210> 15
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 15
 10 000
 <210> 16
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 16
 15 000
 <210> 17
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 17
 20 000
 <210> 18
 <211> 0
 25 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 18
 000
 <210> 19
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 19
 000
 35 <210> 20
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 20
 40 000
 <210> 21
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 21
 45 000
 <210> 22
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 22
 50 000
 <210> 23
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 23
 000
 <210> 24
 60 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 24
 000
 65 <210> 25
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 25
 000
 5 <210> 26
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 26
 10 000
 <210> 27
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 27
 000
 <210> 28
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 28
 000
 <210> 29
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 29
 000
 <210> 30
 30 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 30
 000
 35 <210> 31
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 31
 40 000
 <210> 32
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 32
 000
 <210> 33
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 33
 000
 <210> 34
 <211> 0
 55 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 34
 000
 <210> 35
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 35
 000
 65 <210> 36
 <211> 0

<212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 36
 000
 5 <210> 37
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 37
 10 000
 <210> 38
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 38
 000
 <210> 39
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 39
 000
 <210> 40
 <211> 0
 25 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 40
 000
 <210> 41
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 41
 000
 35 <210> 42
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 42
 40 000
 <210> 43
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 43
 000
 <210> 44
 <211> 0
 <212> PRT
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 44
 000
 <210> 45
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 45
 000
 <210> 46
 60 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 46
 000
 65 <210> 47
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 47
 000
 5 <210> 48
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 48
 10 000
 <210> 49
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 49
 000
 <210> 50
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 50
 000
 <210> 51
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 51
 000
 <210> 52
 30 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 52
 000
 35 <210> 53
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 53
 40 000
 <210> 54
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 54
 000
 <210> 55
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 55
 000
 <210> 56
 <211> 0
 55 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 56
 000
 <210> 57
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 57
 000
 65 <210> 58
 <211> 0

<212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 58
 000
 5 <210> 59
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 59
 10 000
 <210> 60
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 60
 000
 <210> 61
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 61
 000
 <210> 62
 <211> 0
 25 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 62
 000
 <210> 63
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 63
 000
 35 <210> 64
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 64
 40 000
 <210> 65
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 65
 000
 <210> 66
 <211> 0
 <212> PRT
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 66
 000
 <210> 67
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 67
 000
 <210> 68
 60 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 68
 000
 65 <210> 69
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 69
 000
 5 <210> 70
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 70
 10 000
 <210> 71
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 71
 000
 <210> 72
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 72
 000
 <210> 73
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 73
 000
 <210> 74
 30 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 74
 000
 35 <210> 75
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 75
 40 000
 <210> 76
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 76
 000
 <210> 77
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 77
 000
 <210> 78
 <211> 0
 55 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 78
 000
 <210> 79
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 79
 000
 65 <210> 80
 <211> 0

<212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 80
 000
 5 <210> 81
 <211>
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 81
 10 000
 <210> 82
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 82
 000
 <210> 83
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 83
 000
 <210> 84
 <211> 0
 25 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 84
 000
 <210> 85
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 85
 000
 35 <210> 86
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 86
 40 000
 <210> 87
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 87
 000
 <210> 88
 <211> 0
 <212> PRT
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 88
 000
 <210> 89
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 89
 000
 <210> 90
 60 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 90
 000
 65 <210> 91
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 91
 000
 5 <210> 92
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 92
 10 000
 <210> 93
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 93
 000
 <210> 94
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 94
 000
 <210> 95
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 95
 000
 <210> 96
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 96
 000
 <210> 97
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 97
 40 000
 <210> 98
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 98
 000
 <210> 99
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 99
 000
 <210> 100
 <211> 0
 55 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 100
 000
 <210> 101
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 101
 000
 65 <210> 102
 <211> 0

<212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 102
 000
 5 <210> 103
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 103
 10 000
 <210> 104
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 104
 000
 <210> 105
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 105
 000
 <210> 106
 <211> 0
 25 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 106
 000
 <210> 107
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 107
 000
 35 <210> 108
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 108
 40 000
 <210> 109
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 109
 000
 <210> 110
 <211> 0
 <212> PRT
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 110
 000
 <210> 111
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 111
 000
 <210> 112
 60 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 112
 000
 65 <210> 113
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 113
 000
 5 <210> 114
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 114
 10 000
 <210> 115
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 115
 000
 <210> 116
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 116
 000
 <210> 117
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 117
 000
 <210> 118
 30 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 118
 000
 35 <210> 119
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 119
 40 000
 <210> 120
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 120
 000
 <210> 121
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 121
 000
 <210> 122
 <211> 0
 55 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 122
 000
 <210> 123
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 123
 000
 65 <210> 124
 <211> 0

<212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 124
 000
 5 <210> 125
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 125
 10 000
 <210> 126
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 126
 000
 <210> 127
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 127
 000
 <210> 128
 <211> 0
 25 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 128
 000
 <210> 129
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 129
 000
 35 <210> 130
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 130
 40 000
 <210> 131
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 131
 000
 <210> 132
 <211> 0
 <212> PRT
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 132
 000
 <210> 133
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 133
 000
 <210> 134
 60 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 134
 000
 65 <210> 135
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 135
 000
 5 <210> 136
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 136
 10 000
 <210> 137
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 137
 000
 <210> 138
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 138
 000
 <210> 139
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 139
 000
 <210> 140
 30 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 140
 000
 35 <210> 141
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 141
 40 000
 <210> 142
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 142
 000
 <210> 143
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 143
 000
 <210> 144
 <211> 0
 55 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 144
 000
 <210> 145
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 145
 000
 65 <210> 146
 <211> 0

<212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 146
 000
 5 <210> 147
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 147
 10 000
 <210> 148
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 148
 000
 <210> 149
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 149
 000
 <210> 150
 <211> 0
 25 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 150
 000
 <210> 151
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 151
 000
 35 <210> 152
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 152
 40 000
 <210> 153
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 153
 000
 <210> 154
 <211> 0
 <212> PRT
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 154
 000
 <210> 155
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 155
 000
 <210> 156
 60 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 156
 000
 65 <210> 157
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 157
 000
 5 <210> 158
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 158
 10 000
 <210> 159
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 159
 000
 <210> 160
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 160
 000
 <210> 161
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 161
 000
 <210> 162
 30 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 162
 000
 35 <210> 163
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 163
 40 000
 <210> 164
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 164
 000
 <210> 165
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 165
 000
 <210> 166
 <211> 0
 55 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 166
 000
 <210> 167
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 167
 000
 65 <210> 168
 <211> 0

<212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 168
 000
 5 <210> 169
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 169
 10 000
 <210> 170
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 170
 000
 <210> 171
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 171
 000
 <210> 172
 <211> 0
 25 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 172
 000
 <210> 173
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 173
 000
 35 <210> 174
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 174
 40 000
 <210> 175
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 175
 000
 <210> 176
 <211> 0
 <212> PRT
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 176
 000
 <210> 177
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 177
 000
 <210> 178
 60 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 178
 000
 65 <210> 179
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 179
 000
 5 <210> 180
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 180
 10 000
 <210> 181
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 181
 000
 <210> 182
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 182
 000
 <210> 183
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 183
 000
 <210> 184
 30 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 184
 000
 35 <210> 185
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 185
 40 000
 <210> 186
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 186
 000
 <210> 187
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 187
 000
 <210> 188
 <211> 0
 55 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 188
 000
 <210> 189
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 189
 000
 65 <210> 190
 <211> 0

<212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 190
 000
 5 <210> 191
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 191
 10 000
 <210> 192
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 15 <400> 192
 000
 <210> 193
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 193
 000
 <210> 194
 <211> 0
 25 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 194
 000
 <210> 195
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 195
 000
 35 <210> 196
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 196
 40 000
 <210> 197
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 197
 000
 <210> 198
 <211> 0
 <212> PRT
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 198
 000
 <210> 199
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 199
 000
 <210> 200
 60 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 200
 65 000
 <210> 201

<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 201
5 000
<210> 202
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
10 <400> 202
000
<210> 203
<211> 0
<212> ADN
15 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 203
000
<210> 204
<211> 0
20 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 204
000
<210> 205
25 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 205
000
30 <210> 206
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
35 <400> 206
000
<210> 207
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
40 <400> 207
000
<210> 208
<211> 0
<212> PRT
45 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 208
000
<210> 209
<211> 0
50 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 209
000
<210> 210
55 <211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 210
000
60 <210> 211
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
65 <400> 211
000
<210> 212

<211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 212
 5 000
 <210> 213
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 213
 000
 <210> 214
 <211> 0
 <212> PRT
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 214
 000
 <210> 215
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 215
 000
 <210> 216
 25 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 216
 000
 30 <210> 217
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 217
 35 000
 <210> 218
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 40 <400> 218
 000
 <210> 219
 <211> 0
 <212> ADN
 45 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 219
 000
 <210> 220
 <211> 0
 50 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 220
 000
 <210> 221
 55 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 221
 000
 60 <210> 222
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 222
 65 000
 <210> 223

<211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 223
 5 000
 <210> 224
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 224
 000
 <210> 225
 <211> 0
 <212> ADN
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 225
 000
 <210> 226
 <211> 0
 20 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 226
 000
 <210> 227
 25 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 227
 000
 30 <210> 228
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 228
 35 000
 <210> 229
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 40 <400> 229
 000
 <210> 230
 <211> 0
 <212> PRT
 45 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 230
 000
 <210> 231
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 231
 000
 <210> 232
 55 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 232
 000
 60 <210> 233
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 233
 65 000
 <210> 234

<211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 234
 5 000
 <210> 235
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 235
 000
 <210> 236
 <211> 0
 <212> PRT
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 236
 000
 <210> 237
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 237
 000
 <210> 238
 25 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 238
 000
 30 <210> 239
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 239
 35 000
 <210> 240
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 40 <400> 240
 000
 <210> 241
 <211> 0
 <212> ADN
 45 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 241
 000
 <210> 242
 <211> 0
 50 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 242
 000
 <210> 243
 55 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 243
 000
 60 <210> 244
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 244
 65 000
 <210> 245

<211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 245
 5 000
 <210> 246
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 246
 000
 <210> 247
 <211> 0
 <212> ADN
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 247
 000
 <210> 248
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 248
 000
 <210> 249
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 25 <400> 249
 000
 <210> 250
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 250
 000
 <210> 251
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 251
 000
 <210> 252
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 252
 000
 <210> 253
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 253
 000
 <210> 254
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 254
 000
 <210> 255
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 255
 000
 <210> 256

<211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 256
 5 000
 <210> 257
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 257
 000
 <210> 258
 <211> 0
 <212> PRT
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 258
 000
 <210> 259
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 259
 000
 <210> 260
 25 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 260
 000
 30 <210> 261
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 261
 35 000
 <210> 262
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 40 <400> 262
 000
 <210> 263
 <211> 0
 <212> ADN
 45 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 263
 000
 <210> 264
 <211> 0
 50 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 264
 000
 <210> 265
 55 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 265
 000
 60 <210> 266
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 266
 65 000
 <210> 267

<211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 267
 5 000
 <210> 268
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 268
 000
 <210> 269
 <211> 0
 <212> ADN
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 269
 000
 <210> 270
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 270
 000
 <210> 271
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 271
 000
 <210> 272
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 272
 000
 <210> 273
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 273
 000
 <210> 274
 <211> 0
 <212> PRT
 45 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 274
 000
 <210> 275
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 275
 000
 <210> 276
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 276
 000
 <210> 277
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 277
 000
 <210> 278

<211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 278
 5 000
 <210> 279
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 279
 000
 <210> 280
 <211> 0
 <212> PRT
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 280
 000
 <210> 281
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 281
 000
 <210> 282
 25 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 282
 000
 30 <210> 283
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 283
 35 000
 <210> 284
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 40 <400> 284
 000
 <210> 285
 <211> 0
 <212> ADN
 45 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 285
 000
 <210> 286
 <211> 0
 50 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 286
 000
 <210> 287
 55 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 287
 000
 60 <210> 288
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 288
 65 000
 <210> 289

<211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 289
 5 000
 <210> 290
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 290
 000
 <210> 291
 <211> 0
 <212> ADN
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 291
 000
 <210> 292
 <211> 0
 <212> PRT
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 292
 000
 <210> 293
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 25 <400> 293
 000
 <210> 294
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 294
 000
 <210> 295
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 295
 000
 <210> 296
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 296
 000
 <210> 297
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 297
 000
 <210> 298
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 298
 000
 <210> 299
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 299
 000
 <210> 300

<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 300
5 000
<210> 301
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
10 <400> 301
000
<210> 302
<211> 0
<212> PRT
15 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 302
000
<210> 303
<211> 0
20 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 303
000
<210> 304
25 <211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 304
000
30 <210> 305
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
35 <400> 305
000
<210> 306
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
40 <400> 306
000
<210> 307
<211> 0
<212> ADN
45 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 307
000
<210> 308
<211> 0
50 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 308
000
<210> 309
55 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 309
000
60 <210> 310
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
65 <400> 310
000
<210> 311

<211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 311
 5 000
 <210> 312
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 312
 000
 <210> 313
 <211> 0
 <212> ADN
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 313
 000
 <210> 314
 <211> 0
 20 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 314
 000
 <210> 315
 25 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 315
 000
 30 <210> 316
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 316
 35 000
 <210> 317
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 40 <400> 317
 000
 <210> 318
 <211> 0
 <212> PRT
 45 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 318
 000
 <210> 319
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 319
 000
 <210> 320
 55 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 320
 000
 60 <210> 321
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 321
 65 000
 <210> 322

ES 2 380 017 T3

<211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 322
 5 000
 <210> 323
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 10 <400> 323
 000
 <210> 324
 <211> 0
 <212> PRT
 15 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 324
 000
 <210> 325
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 325
 000
 <210> 326
 25 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 326
 000
 30 <210> 327
 <211> 678
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 327

35	atgggtgagct tttgcgagct ttgtggtgcc gaagctgac tccattgtgc cgcggactct	60
40	gccttcctct gccgttcttg tgacgctaag ttccatgcct caaattttct cttcgctcgt	120
45	catttccggc gtgtcatctg cccaaattgc aaatctctta ctcaaaattt cgtttctggt	180
50	cctcttcttc cttggcctcc acgaacaaca tgttgttcag aatcgtcgtc ttcttcttgc	240
55	tgctcgtctc ttgactgtgt ctcaagctcc gagctatcgt caacgacgcg tgacgtaaac	300
60	agagcgcgag ggagggaaaa cagagtgaat gccaaggccg ttgcggttac ggtggcggat	360
65	ggcatttttg taaattggtg tggtaaagta ggactaaaca gggatttaac aaacgctgtc	420
70	gtttcatatg cgtctttggc tttggctgtg gagacgaggc caagagcgac gaagagagtg	480
75	ttcttagcgg cggcgttttg gttcggcggt aagaacacga cgacgtggca gaatttaaag	540
80	aaagtagaag atgtgactgg agtttcagct gggatgattc gagcggttga aagcaaattg	600
85	gcgcgtgcaa tgacgcagca gcttagacgg tggcgcgtgg attcggagga aggatgggct	660
90	gaaaacgaca acgtttga	678

<210> 328
 <211> 225
 <212> PRT
 65 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 328

1 Met Val Ser Phe Cys Glu Leu Cys Gly Ala Glu Ala Asp Leu His Cys
 5
 Ala Ala Asp Ser Ala Phe Leu Cys Arg Ser Cys Asp Ala Lys Phe His
 10
 Ala Ser Asn Phe Leu Phe Ala Arg His Phe Arg Arg Val Ile Cys Pro
 15
 Asn Cys Lys Ser Leu Thr Gln Asn Phe Val Ser Gly Pro Leu Leu Pro
 20
 Trp Pro Pro Arg Thr Thr Cys Cys Ser Glu Ser Ser Ser Ser Ser Cys
 25
 Cys Ser Ser Leu Asp Cys Val Ser Ser Ser Glu Leu Ser Ser Thr Thr
 30
 Arg Asp Val Asn Arg Ala Arg Gly Arg Glu Asn Arg Val Asn Ala Lys
 35
 Ala Val Ala Val Thr Val Ala Asp Gly Ile Phe Val Asn Trp Cys Gly
 40
 Lys Leu Gly Leu Asn Arg Asp Leu Thr Asn Ala Val Val Ser Tyr Ala
 45
 Ser Leu Ala Leu Ala Val Glu Thr Arg Pro Arg Ala Thr Lys Arg Val
 50
 Phe Leu Ala Ala Ala Phe Trp Phe Gly Val Lys Asn Thr Thr Thr Trp
 55
 Gln Asn Leu Lys Lys Val Glu Asp Val Thr Gly Val Ser Ala Gly Met
 60
 Ile Arg Ala Val Glu Ser Lys Leu Ala Arg Ala Met Thr Gln Gln Leu
 65
 Arg Arg Trp Arg Val Asp Ser Glu Glu Gly Trp Ala Glu Asn Asp Asn
 70
 Val
 225

<210> 329
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 329
 000
 <210> 330
 <211> 0
 <212> PRT
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 330
 000
 <210> 331
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 331
 000
 <210> 332
 20 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 332
 000
 25 <210> 333
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 333
 30 000
 <210> 334
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 334
 000
 <210> 335
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 335
 000
 <210> 336
 <211> 0
 45 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 336
 000
 <210> 337
 50 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 337
 000
 55 <210> 338
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 338
 60 000
 <210> 339
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 339
 000

<210> 340
<211> 0
<212> PRT
5 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 340
000
<210> 341
<211> 0
<212> ADN
10 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 341
000
<210> 342
<211> 0
15 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 342
000
<210> 343
20 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 343
000
25 <210> 344
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 344
30 000
<210> 345
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
35 <400> 345
000
<210> 346
<211> 0
<212> PRT
40 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 346
000
<210> 347
<211> 0
45 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 347
000
<210> 348
50 <211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 348
000
<210> 349
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
60 <400> 349
000
<210> 350
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
65 <400> 350
000

<210> 351
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 351
 000
 <210> 352
 <211> 0
 <212> PRT
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 352
 000
 <210> 353
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 353
 000
 <210> 354
 <211> 0
 20 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 354
 000
 25 <210> 355
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 355
 30 000
 <210> 356
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 356
 000
 <210> 357
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 357
 000
 <210> 358
 <211> 0
 45 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 358
 000
 <210> 359
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 359
 000
 55 <210> 360
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 360
 60 000
 <210> 361
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 361
 000

<210> 362
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 362
 000
 <210> 363
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 363
 000
 <210> 364
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 364
 000
 <210> 365
 20 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 365
 000
 25 <210> 366
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 366
 30 000
 <210> 367
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 367
 000
 <210> 368
 <211> 0
 <212> PRT
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 368
 000
 <210> 369
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 369
 000
 <210> 370
 50 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 370
 000
 55 <210> 371
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 371
 60 000
 <210> 372
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 372
 000

<210> 373
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
5 <400> 373
000
<210> 374
<211> 0
<212> PRT
10 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 374
000
<210> 375
<211> 0
15 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 375
000
<210> 376
20 <211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 376
000
25 <210> 377
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 377
30 000
<210> 378
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
35 <400> 378
000
<210> 379
<211> 0
<212> ADN
40 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 379
000
<210> 380
<211> 0
45 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 380
000
<210> 381
50 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 381
000
55 <210> 382
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 382
60 000
<210> 383
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
65 <400> 383
000

<210> 384
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 384
 000
 <210> 385
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 385
 000
 <210> 386
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 386
 000
 <210> 387
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 387
 000
 25 <210> 388
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 388
 30 000
 <210> 389
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 389
 000
 <210> 390
 <211> 0
 <212> PRT
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 390
 000
 <210> 391
 <211> 0
 <212> ADN
 45 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 391
 000
 <210> 392
 <211> 0
 <212> PRT
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 392
 000
 <210> 393
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 393
 60 000
 <210> 394
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 394
 000

<210> 395
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 395
 000
 <210> 396
 <211> 0
 <212> PRT
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 396
 000
 <210> 397
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 397
 000
 <210> 398
 <211> 0
 20 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 398
 000
 25 <210> 399
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 399
 30 000
 <210> 400
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 400
 000
 <210> 401
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 401
 000
 <210> 402
 <211> 0
 45 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 402
 000
 <210> 403
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 403
 000
 55 <210> 404
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 404
 60 000
 <210> 405
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 405
 000

<210> 406
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 406
 000
 <210> 407
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 407
 000
 <210> 408
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 408
 000
 <210> 409
 20 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 409
 000
 25 <210> 410
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 410
 30 000
 <210> 411
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 411
 000
 <210> 412
 <211> 0
 <212> PRT
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 412
 000
 <210> 413
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 413
 000
 <210> 414
 50 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 414
 000
 55 <210> 415
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 415
 60 000
 <210> 416
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 416
 000

<210> 417
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
5 <400> 417
000
<210> 418
<211> 0
<212> PRT
10 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 418
000
<210> 419
<211> 0
15 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 419
000
<210> 420
20 <211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 420
000
25 <210> 421
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 421
30 000
<210> 422
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
35 <400> 422
000
<210> 423
<211> 0
<212> ADN
40 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 423
000
<210> 424
<211> 0
45 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 424
000
<210> 425
50 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 425
000
55 <210> 426
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 426
60 000
<210> 427
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
65 <400> 427
000

<210> 428
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 428
 000
 <210> 429
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 429
 000
 <210> 430
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 430
 000
 <210> 431
 20 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 431
 000
 25 <210> 432
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 432
 30 000
 <210> 433
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 433
 000
 <210> 434
 <211> 0
 <212> PRT
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 434
 000
 <210> 435
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 435
 000
 <210> 436
 50 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 436
 000
 55 <210> 437
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 437
 60 000
 <210> 438
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 438
 000

<210> 439
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 439
 000
 <210> 440
 <211> 0
 <212> PRT
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 440
 000
 <210> 441
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 441
 000
 <210> 442
 20 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 442
 000
 25 <210> 443
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 443
 30 000
 <210> 444
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 444
 000
 <210> 445
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 445
 000
 <210> 446
 <211> 0
 45 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 446
 000
 <210> 447
 50 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 447
 000
 55 <210> 448
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 448
 60 000
 <210> 449
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 449
 000

<210> 450
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 450
 000
 <210> 451
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 451
 000
 <210> 452
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 452
 000
 <210> 453
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 453
 000
 <210> 454
 <211> 0
 <212> PRT
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 454
 000
 <210> 455
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 455
 000
 <210> 456
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 456
 000
 <210> 457
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 457
 000
 <210> 458
 <211> 0
 <212> PRT
 45 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 458
 000
 <210> 459
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 459
 000
 <210> 460
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 460
 000

<210> 461
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 461
 000
 <210> 462
 <211> 0
 <212> PRT
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 462
 000
 <210> 463
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 463
 000
 <210> 464
 20 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 464
 000
 25 <210> 465
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 465
 30 000
 <210> 466
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 466
 000
 <210> 467
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 467
 000
 <210> 468
 <211> 0
 45 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 468
 000
 <210> 469
 50 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 469
 000
 55 <210> 470
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 470
 60 000
 <210> 471
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 471
 000

<210> 472
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 472
 000
 <210> 473
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 473
 000
 <210> 474
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 474
 000
 <210> 475
 20 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 475
 000
 25 <210> 476
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 476
 30 000
 <210> 477
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 477
 000
 <210> 478
 <211> 0
 <212> PRT
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 478
 000
 <210> 479
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 479
 000
 <210> 480
 50 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 480
 000
 55 <210> 481
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 481
 60 000
 <210> 482
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 482
 000

<210> 483
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 5 <400> 483
 000
 <210> 484
 <211> 0
 <212> PRT
 10 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 484
 000
 <210> 485
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 485
 000
 <210> 486
 <211> 0
 20 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 486
 000
 25 <210> 487
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 487
 30 000
 <210> 488
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 35 <400> 488
 000
 <210> 489
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 489
 000
 <210> 490
 <211> 0
 45 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 490
 000
 50 <210> 491
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 491
 55 000
 <210> 492
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 492
 000
 <210> 493
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 493

000
 <210> 494
 <211> 0
 <212> PRT
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 494
 000
 <210> 495
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 495
 000
 <210> 496
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 496
 000
 20 <210> 497
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 497
 25 000
 <210> 498
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 498
 000
 <210> 499
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 499
 000
 <210> 500
 <211> 0
 40 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 500
 000
 <210> 501
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 501
 000
 50 <210> 502
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 502
 55 000
 <210> 503
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 503
 000
 <210> 504
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 504

000
 <210> 505
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 505
 000
 <210> 506
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 506
 000
 <210> 507
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 507
 000
 20 <210> 508
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 508
 25 000
 <210> 509
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 509
 000
 <210> 510
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 510
 000
 <210> 511
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 511
 000
 <210> 512
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 512
 000
 50 <210> 513
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 513
 55 000
 <210> 514
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 514
 000
 <210> 515
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 515

000
 <210> 516
 <211> 0
 <212> PRT
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 516
 000
 <210> 517
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 517
 000
 <210> 518
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 518
 000
 <210> 519
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 519
 25 000
 <210> 520
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 520
 30 000
 <210> 521
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 521
 35 000
 <210> 522
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 522
 40 000
 <210> 523
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 523
 45 000
 <210> 524
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 524
 50 000
 <210> 525
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 525
 60 000
 <210> 526
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 526
 65

000
 <210> 527
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 527
 000
 <210> 528
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 528
 000
 <210> 529
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 529
 000
 20 <210> 530
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 530
 25 000
 <210> 531
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 531
 000
 <210> 532
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 532
 000
 <210> 533
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 533
 000
 <210> 534
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 534
 000
 50 <210> 535
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 535
 55 000
 <210> 536
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 536
 000
 <210> 537
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 537

000
 <210> 538
 <211> 0
 <212> PRT
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 538
 000
 <210> 539
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 539
 000
 <210> 540
 15 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 540
 000
 <210> 541
 20 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 541
 25 000
 <210> 542
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 542
 000
 <210> 543
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 543
 000
 <210> 544
 <211> 0
 40 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 544
 000
 <210> 545
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 545
 000
 <210> 546
 50 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 546
 55 000
 <210> 547
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 547
 000
 <210> 548
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 548

000
 <210> 549
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 549
 000
 <210> 550
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 550
 000
 <210> 551
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 551
 000
 20 <210> 552
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 552
 25 000
 <210> 553
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 553
 000
 <210> 554
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 554
 000
 <210> 555
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 555
 000
 <210> 556
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 556
 000
 50 <210> 557
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 557
 55 000
 <210> 558
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 558
 000
 <210> 559
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 559

000
 <210> 560
 <211> 0
 <212> PRT
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 560
 000
 <210> 561
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 561
 000
 <210> 562
 15 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 562
 000
 20 <210> 563
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 563
 25 000
 <210> 564
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 564
 000
 <210> 565
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 565
 000
 <210> 566
 <211> 0
 40 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 566
 000
 <210> 567
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 567
 000
 50 <210> 568
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 568
 55 000
 <210> 569
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 569
 000
 <210> 570
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 570

000
<210> 571
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 571
000
<210> 572
<211> 0
10 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 572
000
<210> 573
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 573
000
20 <210> 574
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 574
25 000
<210> 575
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
30 <400> 575
000
<210> 576
<211> 0
<212> PRT
35 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 576
000
<210> 577
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 577
000
<210> 578
45 <211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 578
000
50 <210> 579
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 579
55 000
<210> 580
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
60 <400> 580
000
<210> 581
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 581

000
<210> 582
<211> 0
<212> PRT
5 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 582
000
<210> 583
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 583
000
<210> 584
<211> 0
15 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 584
000
<210> 585
<211> 0
<212> ADN
20 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 585
25 000
<210> 586
<211> 0
<212> PRT
30 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 586
000
<210> 587
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 587
000
<210> 588
<211> 0
40 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 588
000
<210> 589
<211> 0
45 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 589
000
<210> 590
<211> 0
<212> PRT
50 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 590
55 000
<210> 591
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 591
000
<210> 592
<211> 0
<212> PRT
65 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 592

000
 <210> 593
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 593
 000
 <210> 594
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 594
 000
 <210> 595
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 595
 000
 20 <210> 596
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 596
 25 000
 <210> 597
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 597
 000
 <210> 598
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 598
 000
 <210> 599
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 599
 000
 <210> 600
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 600
 000
 50 <210> 601
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 601
 55 000
 <210> 602
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 602
 000
 <210> 603
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 603

000
 <210> 604
 <211> 0
 <212> PRT
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 604
 000
 <210> 605
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 605
 000
 <210> 606
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 606
 000
 <210> 607
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 607
 25 000
 <210> 608
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 608
 000
 <210> 609
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 609
 000
 <210> 610
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 40 <400> 610
 000
 <210> 611
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 611
 000
 <210> 612
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 612
 000
 <210> 613
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 613
 000
 <210> 614
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 614
 000
 <210> 614
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 65 <400> 614

000
 <210> 615
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 615
 000
 <210> 616
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 616
 000
 <210> 617
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 617
 000
 20 <210> 618
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 618
 25 000
 <210> 619
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 30 <400> 619
 000
 <210> 620
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 620
 000
 <210> 621
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 621
 000
 <210> 622
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 622
 50 000
 <210> 623
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 623
 000
 <210> 624
 <211> 0
 <212> PRT
 60 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 624
 000
 <210> 625
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 625
 000
 <210> 626
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 626
 000
 <210> 627
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 627
 000
 <210> 628
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 628
 20 000
 <210> 629
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 25 <400> 629
 000
 <210> 630
 <211> 0
 <212> PRT
 30 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 630
 000
 <210> 631
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 631
 000
 <210> 632
 40 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 632
 000
 <210> 633
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 633
 50 000
 <210> 634
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 634
 000
 <210> 635
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 635
 000
 <210> 636
 <211> 0
 65 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 636
 000
 <210> 637
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 637
 000
 <210> 638
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 638
 000
 <210> 639
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 639
 20 000
 <210> 640
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 25 <400> 640
 000
 <210> 641
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 641
 000
 <210> 642
 <211> 0
 35 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 642
 000
 <210> 643
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 643
 000
 <210> 644
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 644
 50 000
 <210> 645
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 645
 000
 <210> 646
 <211> 0
 <212> PRT
 60 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 646
 000
 <210> 647
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 647
000
<210> 648
<211> 0
5 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 648
000
<210> 649
10 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 649
000
15 <210> 650
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 650
20 000
<210> 651
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
25 <400> 651
000
<210> 652
<211> 0
<212> PRT
30 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 652
000
<210> 653
<211> 0
35 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 653
000
<210> 654
40 <211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 654
000
45 <210> 655
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 655
50 000
<210> 656
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
55 <400> 656
000
<210> 657
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 657
000
<210> 658
<211> 0
65 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 658
000
<210> 659
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 659
000
10 <210> 660
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 660
000
15 <210> 661
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 661
20 000
<210> 662
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
25 <400> 662
000
<210> 663
<211> 0
<212> ADN
30 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 663
000
<210> 664
<211> 0
35 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 664
000
<210> 665
40 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 665
000
45 <210> 666
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 666
50 000
<210> 667
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
55 <400> 667
000
<210> 668
<211> 0
<212> PRT
60 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 668
000
<210> 669
<211> 0
65 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 669
 000
 <210> 670
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 670
 000
 <210> 671
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 671
 000
 <210> 672
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 672
 20 000
 <210> 673
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 673
 000
 <210> 674
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 674
 000
 <210> 675
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 35 <400> 675
 000
 <210> 676
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 676
 000
 <210> 677
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 677
 50 000
 <210> 678
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 678
 000
 <210> 679
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 60 <400> 679
 000
 <210> 680
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 65 <400> 680
 000

<400> 680
 000
 <210> 681
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 681
 000
 <210> 682
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 682
 000
 <210> 683
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 683
 20 000
 <210> 684
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 25 <400> 684
 000
 <210> 685
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Glycine max*
 <400> 685
 000
 <210> 686
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 686
 000
 <210> 687
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 687
 000
 45 <210> 688
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 688
 50 000
 <210> 689
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 689
 000
 <210> 690
 <211> 0
 <212> PRT
 60 <213> *Oryza sativa*
 <400> 690
 000
 <210> 691
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Zea mays*

<400> 691
 000
 <210> 692
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 692
 000
 <210> 693
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 693
 000
 <210> 694
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 694
 20 000
 <210> 695
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 695
 000
 <210> 696
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 696
 000
 <210> 697
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 35 <400> 697
 000
 <210> 698
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 40 <400> 698
 000
 <210> 699
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 699
 50 000
 <210> 700
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 700
 000
 <210> 701
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 60 <400> 701
 000
 <210> 702
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 65

<400> 702
 000
 <210> 703
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 703
 000
 <210> 704
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 704
 000
 <210> 705
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 705
 20 000
 <210> 706
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 706
 000
 <210> 707
 <211> 0
 <212> PRT
 30 <213> *Oryza sativa*
 <400> 707
 000
 <210> 708
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 708
 000
 <210> 709
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 709
 000
 <210> 710
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 710
 50 000
 <210> 711
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 711
 000
 <210> 712
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Zea mays*
 <400> 712
 000
 <210> 713
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Glycine max*

<400> 713
 000
 <210> 714
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 714
 000
 <210> 715
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 715
 000
 <210> 716
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 716
 20 000
 <210> 717
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 25 <400> 717
 000
 <210> 718
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Zea mays*
 <400> 718
 000
 <210> 719
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 719
 000
 <210> 720
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 720
 40 000
 <210> 721
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 721
 45 000
 <210> 722
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 722
 50 000
 <210> 723
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 723
 55 000
 <210> 724
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 724
 60 000
 <210> 725
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 725
 65 000

<400> 724
 000
 <210> 725
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 725
 000
 <210> 726
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 726
 000
 <210> 727
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 727
 20 000
 <210> 728
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 728
 000
 <210> 729
 <211> 0
 <212> PRT
 30 <213> *Oryza sativa*
 <400> 729
 000
 <210> 730
 <211> 0
 35 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 730
 000
 <210> 731
 40 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 731
 000
 45 <210> 732
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 732
 50 000
 <210> 733
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 733
 000
 <210> 734
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Zea mays*
 <400> 734
 000
 <210> 735
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Zea mays*

<400> 735
000
<210> 736
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 736
000
10 <210> 737
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 737
000
15 <210> 738
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 738
20 000
<210> 739
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
25 <400> 739
000
<210> 740
<211> 0
<212> ADN
30 <213> *Zea mays*
<400> 740
000
<210> 741
<211> 0
35 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 741
000
<210> 742
40 <211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 742
000
45 <210> 743
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 743
50 000
<210> 744
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
55 <400> 744
000
<210> 745
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Zea mays*
<400> 745
000
<210> 746
<211> 0
65 <212> ADN
<213> *Zea mays*

<400> 746
 000
 <210> 747
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 747
 000
 <210> 748
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 748
 000
 <210> 749
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 749
 20 000
 <210> 750
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 750
 000
 <210> 751
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 751
 000
 <210> 752
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 752
 000
 <210> 753
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 753
 000
 <210> 754
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 754
 50 000
 <210> 755
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 755
 000
 <210> 756
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 756
 000
 <210> 757
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 65 <400> 757
 000

<400> 757
000
<210> 758
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 758
000
<210> 759
10 <211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 759
000
15 <210> 760
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 760
20 000
<210> 761
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
25 <400> 761
000
<210> 762
<211> 0
<212> PRT
30 <213> *Oryza sativa*
<400> 762
000
<210> 763
<211> 0
35 <212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 763
000
<210> 764
40 <211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 764
000
45 <210> 765
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 765
50 000
<210> 766
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
55 <400> 766
000
<210> 767
<211> 0
<212> PRT
60 <213> *Oryza sativa*
<400> 767
000
<210> 768
<211> 0
65 <212> ADN
<213> *Glycine max*

<400> 768
 000
 <210> 769
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 769
 000
 <210> 770
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 770
 000
 <210> 771
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 771
 20 000
 <210> 772
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 772
 000
 <210> 773
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 773
 000
 <210> 774
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 774
 35 000
 <210> 775
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 775
 40 000
 <210> 776
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 776
 45 000
 <210> 777
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 777
 50 000
 <210> 778
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 778
 60 000
 <210> 779
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 65

<400> 779
 000
 <210> 780
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 780
 000
 <210> 781
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 781
 000
 <210> 782
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 782
 20 000
 <210> 783
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 783
 000
 <210> 784
 <211> 0
 <212> PRT
 30 <213> *Oryza sativa*
 <400> 784
 000
 <210> 785
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Oryza sativa*
 <400> 785
 000
 <210> 786
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 786
 000
 <210> 787
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 787
 50 000
 <210> 788
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 788
 000
 <210> 789
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Zea mays*
 <400> 789
 000
 <210> 790
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Zea mays*

<400> 790
 000
 <210> 791
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 791
 000
 <210> 792
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 792
 000
 <210> 793
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 793
 20 000
 <210> 794
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 25 <400> 794
 000
 <210> 795
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Zea mays*
 <400> 795
 000
 <210> 796
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 796
 000
 <210> 797
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 797
 000
 45 <210> 798
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 798
 50 000
 <210> 799
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 799
 000
 <210> 800
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Glycine max*
 <400> 800
 000
 <210> 801
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Glycine max*

<400> 801
000
<210> 802
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 802
000
<210> 803
10 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 803
000
<210> 804
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 804
20 000
<210> 805
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
25 <400> 805
000
<210> 806
<211> 0
<212> ADN
30 <213> *Glycine max*
<400> 806
000
<210> 807
<211> 0
35 <212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 807
000
<210> 808
40 <211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 808
000
45 <210> 809
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 809
50 000
<210> 810
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
55 <400> 810
000
<210> 811
<211> 0
<212> PRT
60 <213> *Oryza sativa*
<400> 811
000
<210> 812
<211> 0
65 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*

<400> 812
 000
 <210> 813
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 813
 000
 <210> 814
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 814
 000
 <210> 815
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 815
 20 000
 <210> 816
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 25 <400> 816
 000
 <210> 817
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Zea mays*
 <400> 817
 000
 <210> 818
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Zea mays*
 <400> 818
 000
 <210> 819
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 819
 000
 <210> 820
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 820
 50 000
 <210> 821
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 821
 000
 <210> 822
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Glycine max*
 <400> 822
 000
 <210> 823
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Glycine max*

<400> 823
 000
 <210> 824
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 824
 000
 <210> 825
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 825
 000
 <210> 826
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 826
 20 000
 <210> 827
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 827
 000
 <210> 828
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 828
 000
 <210> 829
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 35 <400> 829
 000
 <210> 830
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 830
 40 000
 <210> 831
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 831
 45 000
 <210> 832
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 50 <400> 832
 000
 <210> 833
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 833
 000
 <210> 834
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 60 <400> 834
 000
 <210> 835
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 65 <400> 835
 000

<400> 834
000
<210> 835
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 835
000
<210> 836
10 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 836
000
<210> 837
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 837
20 000
<210> 838
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
25 <400> 838
000
<210> 839
<211> 0
<212> ADN
30 <213> *Glycine max*
<400> 839
000
<210> 840
<211> 0
35 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 840
000
<210> 841
40 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 841
000
45 <210> 842
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 842
50 000
<210> 843
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
55 <400> 843
000
<210> 844
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Oryza sativa*
<400> 844
000
<210> 845
<211> 0
65 <212> PRT
<213> *Oryza sativa*

<400> 845
 000
 <210> 846
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 846
 000
 <210> 847
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 847
 000
 <210> 848
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 848
 20 000
 <210> 849
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 849
 000
 <210> 850
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 30 <400> 850
 000
 <210> 851
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 35 <400> 851
 000
 <210> 852
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 852
 000
 <210> 853
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 853
 50 000
 <210> 854
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 854
 000
 <210> 855
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 60 <400> 855
 000
 <210> 856
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 65

<400> 856
 000
 <210> 857
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 857
 000
 <210> 858
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 858
 000
 <210> 859
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 859
 20 000
 <210> 860
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 25 <400> 860
 000
 <210> 861
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Glycine max*
 <400> 861
 000
 <210> 862
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 862
 000
 <210> 863
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 863
 000
 45 <210> 864
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 864
 50 000
 <210> 865
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 865
 000
 <210> 866
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Zea mays*
 <400> 866
 000
 <210> 867
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Zea mays*

<400> 867
 000
 <210> 868
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 868
 000
 <210> 869
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 869
 000
 <210> 870
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 870
 20 000
 <210> 871
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 871
 000
 <210> 872
 <211> 0
 <212> PRT
 30 <213> *Oryza sativa*
 <400> 872
 000
 <210> 873
 <211> 0
 35 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 873
 000
 <210> 874
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 874
 000
 45 <210> 875
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 875
 50 000
 <210> 876
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 876
 000
 <210> 877
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Glycine max*
 <400> 877
 000
 <210> 878
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Glycine max*

<400> 878
 000
 <210> 879
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 879
 000
 <210> 880
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 880
 000
 <210> 881
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 881
 20 000
 <210> 882
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 882
 000
 <210> 883
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 883
 000
 <210> 884
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 35 <400> 884
 000
 <210> 885
 40 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 885
 000
 <210> 886
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 886
 50 000
 <210> 887
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 887
 000
 <210> 888
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 60 <400> 888
 000
 <210> 889
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 65

<400> 889
 000
 <210> 890
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 890
 000
 <210> 891
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 891
 000
 <210> 892
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 892
 20 000
 <210> 893
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 893
 000
 <210> 894
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Zea mays*
 <400> 894
 000
 <210> 895
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 895
 000
 <210> 896
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 896
 000
 <210> 897
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 897
 50 000
 <210> 898
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 898
 000
 <210> 899
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Zea mays*
 <400> 899
 000
 <210> 900
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Zea mays*

<400> 900
 000
 <210> 901
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 901
 000
 <210> 902
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 902
 000
 <210> 903
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 903
 20 000
 <210> 904
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 904
 000
 <210> 905
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 905
 000
 <210> 906
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 35 <400> 906
 000
 <210> 907
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 907
 000
 40 <210> 908
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 908
 45 000
 <210> 909
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 50 <400> 909
 000
 <210> 910
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 910
 000
 <210> 911
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 60 <400> 911
 000
 <210> 911
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 65 <400> 911
 000
 <210> 911
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*

<400> 911
000
<210> 912
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 912
000
<210> 913
10 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 913
000
<210> 914
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 914
20 000
<210> 915
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
25 <400> 915
000
<210> 916
<211> 0
<212> ADN
30 <213> *Glycine max*
<400> 916
000
<210> 917
<211> 0
35 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 917
000
<210> 918
40 <211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 918
000
45 <210> 919
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 919
50 000
<210> 920
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
55 <400> 920
000
<210> 921
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Zea mays*
<400> 921
000
<210> 922
<211> 0
65 <212> ADN
<213> *Zea mays*

<400> 922
 000
 <210> 923
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 923
 000
 <210> 924
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 924
 000
 <210> 925
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 925
 20 000
 <210> 926
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 926
 000
 <210> 927
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Glycine max*
 <400> 927
 000
 <210> 928
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 928
 000
 <210> 929
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 929
 000
 45 <210> 930
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 930
 50 000
 <210> 931
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 931
 000
 <210> 932
 <211> 0
 <212> PRT
 60 <213> *Oryza sativa*
 <400> 932
 000
 <210> 933
 <211> 0
 65 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*

<400> 944
000
<210> 945
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 945
000
<210> 946
10 <211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 946
000
15 <210> 947
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 947
20 000
<210> 948
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
25 <400> 948
000
<210> 949
<211> 0
<212> ADN
30 <213> *Glycine max*
<400> 949
000
<210> 950
<211> 0
35 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 950
000
<210> 951
40 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 951
000
45 <210> 952
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 952
50 000
<210> 953
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
55 <400> 953
000
<210> 954
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Oryza sativa*
<400> 954
000
<210> 955
<211> 0
65 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*

<400> 955
 000
 <210> 956
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 956
 000
 <210> 957
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 957
 000
 <210> 958
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 958
 20 000
 <210> 959
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 959
 000
 <210> 960
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 960
 000
 <210> 961
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 961
 000
 <210> 962
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 962
 000
 <210> 963
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 963
 50 000
 <210> 964
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 964
 55 000
 <210> 965
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 965
 60 000
 <210> 966
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*

<400> 966
 000
 <210> 967
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 967
 000
 <210> 968
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 968
 000
 <210> 969
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 969
 20 000
 <210> 970
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 970
 000
 <210> 971
 <211> 0
 <212> PRT
 30 <213> *Oryza sativa*
 <400> 971
 000
 <210> 972
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 972
 000
 <210> 973
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 973
 000
 <210> 974
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 974
 50 000
 <210> 975
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 975
 000
 <210> 976
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Glycine max*
 <400> 976
 000
 <210> 977
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*

<400> 977
 000
 <210> 978
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 978
 000
 <210> 979
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 979
 000
 <210> 980
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 980
 20 000
 <210> 981
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 25 <400> 981
 000
 <210> 982
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Glycine max*
 <400> 982
 000
 <210> 983
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 983
 000
 <210> 984
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 984
 000
 45 <210> 985
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 985
 50 000
 <210> 986
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 986
 000
 <210> 987
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Glycine max*
 <400> 987
 000
 <210> 988
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Glycine max*

<400> 988
 000
 <210> 989
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 989
 000
 <210> 990
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 990
 000
 <210> 991
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 991
 20 000
 <210> 992
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 992
 000
 <210> 993
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 993
 000
 <210> 994
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 994
 000
 <210> 995
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 995
 000
 <210> 996
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 996
 50 000
 <210> 997
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 997
 000
 <210> 998
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 998
 000
 <210> 999
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 65

<400> 999
 000
 <210> 1000
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1000
 000
 <210> 1001
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1001
 000
 <210> 1002
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1002
 20 000
 <210> 1003
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 1003
 000
 <210> 1004
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 30 <400> 1004
 000
 <210> 1005
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 35 <400> 1005
 000
 <210> 1006
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1006
 40 000
 <210> 1007
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1007
 45 000
 <210> 1008
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 1008
 000
 <210> 1009
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 1009
 000
 <210> 1010
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 65

<400> 1010
 000
 <210> 1011
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1011
 000
 <210> 1012
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1012
 000
 <210> 1013
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1013
 20 000
 <210> 1014
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 1014
 000
 <210> 1015
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Glycine max*
 <400> 1015
 000
 <210> 1016
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 1016
 000
 <210> 1017
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1017
 000
 <210> 1018
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1018
 50 000
 <210> 1019
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 1019
 000
 <210> 1020
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1020
 000
 <210> 1021
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Oryza sativa*

<400> 1021
 000
 <210> 1022
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1022
 000
 <210> 1023
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1023
 000
 <210> 1024
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1024
 20 000
 <210> 1025
 <211> 0

 <212> ADN
 25 <213> *Zea mays*
 <400> 1025
 000
 <210> 1026
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1026
 000
 <210> 1027
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1027
 000
 <210> 1028
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1028
 45 000
 <210> 1029
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 50 <400> 1029
 000
 <210> 1030
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Zea mays*
 <400> 1030
 000
 <210> 1031
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1031
 000
 <210> 1032
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Oryza sativa*
 <400> 1032
 000
 <210> 1033
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1033
 000
 10 <210> 1034
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1034
 15 000
 <210> 1035
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 20 <400> 1035
 000
 <210> 1036
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Glycine max*
 <400> 1036
 000
 <210> 1037
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1037
 000
 <210> 1038
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1038
 000
 40 <210> 1039
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1039
 45 000
 <210> 1040
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 50 <400> 1040
 000
 <210> 1041
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1041
 000
 <210> 1042
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1042
 000
 <210> 1043
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Zea mays*
 <400> 1043
 000
 <210> 1044
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1044
 000
 10 <210> 1045
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1045
 15 000
 <210> 1046
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 20 <400> 1046
 000
 <210> 1047
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Zea mays*
 <400> 1047
 000
 <210> 1048
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1048
 000
 <210> 1049
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1049
 000
 40 <210> 1050
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1050
 45 000
 <210> 1051
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 50 <400> 1051
 000
 <210> 1052
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Glycine max*
 <400> 1052
 000
 <210> 1053
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1053
 000
 <210> 1054
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Oryza sativa*
 <400> 1054
 000
 <210> 1055
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1055
 000
 10 <210> 1056
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1056
 15 000
 <210> 1057
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 20 <400> 1057
 000
 <210> 1058
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Glycine max*
 <400> 1058
 000
 <210> 1059
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1059
 000
 <210> 1060
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1060
 000
 40 <210> 1061
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1061
 45 000
 <210> 1062
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 50 <400> 1062
 000
 <210> 1063
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1063
 000
 <210> 1064
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1064
 000
 <210> 1065
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Oryza sativa*
 <400> 1065
 000
 <210> 1066
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1066
 000
 10 <210> 1067
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1067
 15 000
 <210> 1068
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 20 <400> 1068
 000
 <210> 1069
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Glycine max*
 <400> 1069
 000
 <210> 1070
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1070
 000
 <210> 1071
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1071
 000
 40 <210> 1072
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1072
 45 000
 <210> 1073
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 50 <400> 1073
 000
 <210> 1074
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1074
 000
 <210> 1075
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1075
 000
 <210> 1076
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Oryza sativa*
 <400> 1076
 000
 <210> 1077
 5 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1077
 000
 10 <210> 1078
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1078
 15 000
 <210> 1079
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 20 <400> 1079
 000
 <210> 1080
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Zea mays*
 <400> 1080
 000
 <210> 1081
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1081
 000
 <210> 1082
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1082
 000
 40 <210> 1083
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1083
 45 000
 <210> 1084
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 50 <400> 1084
 000
 <210> 1085
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1085
 000
 <210> 1086
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1086
 000
 <210> 1087
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Oryza sativa*
 <400> 1087
 000
 <210> 1088
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1088
 000
 10 <210> 1089
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1089
 15 000
 <210> 1090
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 20 <400> 1090
 000
 <210> 1091
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Glycine max*
 <400> 1091
 000
 <210> 1092
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1092
 000
 <210> 1093
 35 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1093
 000
 40 <210> 1094
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1094
 45 000
 <210> 1095
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 50 <400> 1095
 000
 <210> 1096
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1096
 000
 <210> 1097
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1097
 000
 <210> 1098
 65 <211> 1258
 <212> ADN

ES 2 380 017 T3

<213> *Glycine max*
<400> 1098

5 tggcgtttgt ttagaaaagg ctgatccacg aaccaatgga atcacatcag ctgtgtcttc 60
aattcatatt gaataagctc atttccatca attaatagtt ccggtggaatg tggcttcact 120
10 agctattagt ttttgctttt tttcaatttc gggggaaaat gagtgtaaga ttgaaaataa 180

gctttaattg atatagtttt ttttattttt attttaaaaa aaaaaaaaaa aaactcgagt 240
15 tttttttttt ttttttttta ctactaaaac cttgtctatt aagcacattt agaatgagtt 300
gcttggctgg ctagtttttc atttatattc gaatttggtg atccaattgc tacacattaa 360
20 tcaacaacca ttcgtagata caaaaaagaa aagaaaagca aaggaaacta aactcaaatt 420
tgaaatccac acatttggat tacacataca ttacaatgca ttggtatagc tatcatcagc 480
taggactcgc cccatccttc ctgcaattcg cggcgggtgcg tgaagacacg tgcgaggttg 540
25 gcatgtgcgc ccagaatcag ctttgctggc actccagata ttgcctcaa cctcgccaga 600
ttctgacacg tggcgaggcc tctgtcccca caaatctca gccccaacca aaacgacgtc 660
gcagcagcca ccctgaacgg aagcgacctc cactttccga ggcacacact cagagcgttc 720
30 gacgccacgc gatttccggt caccctaac cctaacccta tctctctgct ccattttctca 780
aacacctccg ccaccgatcc gccatttctc cgccgcttct tcgccgccgg agatgcgctg 840
35 tcggtcacgg aggaactcga gaaactctc ctctcctcc tcctcttctt ctccgcctta 900
atctgattcg tagagcaaga ctcggaactg gagacgcagg tagaagagga agggagagaa 960
tcggagtcgg cggaaggaat ctccagggag caagaggtgc aggtggagga gaggtggcgg 1020
40 gatatagcac cggagatgtg aattgcggcg aaacggttgc atttggagca gaggaggcgg 1080
cggaggtggc gagctacgag gaagttggcg gcgtggacgg cggcgtcgca gtggaagcag 1140
45 agaaatgcgg aatcggaggg acaatagaga gaagctagtt gatgacaaag ctcgcaagtc 1200
ttgggcttca tcttaataag tctctgaggt agagagagtg gagtatgctg tgaccaa 1258

<210> 1099
<211> 1044
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1099

55

60

65

ES 2 380 017 T3

5 tttttattcg aatttggtga tccaattggt aaacacatta atgaacaagg attggtagaa 60
 gcgaaaagca aaggaaacaa aagtaaaatt tgaaatccag gcatttggtt tggctaataga 120
 gacgattaca cattggagct agctaggact cgccccatcc ttcttgcaat tcgcggcggt 180
 gcgtgaagac acgtgccagg tcgccatgtg cggccagaat cagcttaact ggcaactccgg 240
 10 atattgcctc caacctcgcc agattctgac acgaggccag ccctctgtcc ccacaaaatc 300
 tcagcccca ccaaaacgac gtcgcagcag ccacctgaa cggaagccac ctccactttc 360
 ccaggcacac actcagagcg ttcgacgcca cgcgatttcc gtttaccctt aaccctaacc 420
 15 ctaaccctat ctctctgctc cttttctcaa acacctctc cgatcctcca ctctctgtcc 480
 gcttcttcgc cgccggagat gcgtcgtcgg tcacggagga acccgaccaa ctctcttct 540
 20 tctccgcctt aatctgcttc gtggagcaag actcggaaact ggagacgcag gtagaagagg 600
 aagggagaga atcggagtag tcagcgggaag gattctccgg ggagcaagag ctgcaggtgg 660
 acgagaggtg gcgggatata gcgccggagg agatgtgaaa tccggcgaaa cggttgatt 720
 25 tggagcagag gaggcgacgg aggtgacgag ctacgagaaa gttggcggcg tgcacggcgg 780

30 cgctgcagtc ggagcagaga aatgcggaat cggagggaca atagagagaa gcttgttgat 840
 cacaaagctc gcaagtctta cccttcatct tcgcctgaac gttaatttca aaaattaa 900
 aaagaaaatg attcttctga tgttttgact tgctaaaaat tgagggagta tgacaaaaac 960
 35 tccaccctct tctgtctggg atcagaggta gagtgagtgc gttgtgtgtt attgcgttat 1020
 tcttcccttg acctcgagcc gaat 1044

40 <210> 1100
 <211> 1096
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <220>
 45 <221> misc_feature
 <222> (775)..(775)
 <223> n es a, c, g, o t
 <220>
 <221> misc_feature
 50 <222> (857)..(857)
 <223> n es a, c, g, o t
 <400> 1100

55

60

65

70

ES 2 380 017 T3

5	gcacgaggcc tcgtgccgaa ttcgggacgg cgccagcgtc tcgctcccaa gccagacctc	60
	ccccctcgcc gtccgcgcgc gcgcccgcgg tttccccgc tcgccgccgg tttccccgc	120
	tcgccgccgg tttccccgaa gcgcgccgcg cccgcgcctg cgcccgccgg tcgccatcgc	180
10	catctcgccc tcgcgcgagg actggtgtcc ctgttttgct ctgtagtata aagccacgca	240
	aacccccgcc aggtgttcga ccgagtgaca caagagtcca gcctcttgca acctgtaatg	300
15	gaggtcggca acggcaagtg cggcgggtgtt ggcgccgggt gcgagctgtg cgggggcgtg	360
	gccgcggtgc actgcgccgc tgactccgcg tttctttgct tggtagtga cgacaaggtg	420
20	cacggcgcca acttcctcgc gtccaggcac cgccgccgcc ggttgggggt tgaggtggtg	480
	gatgaggagg atgacgcccg gtccacggcg tcgagctcgt gcgtgtcgac ggcggactcc	540
25	gcgtcgtcca cgccgccgcc ggccaccgca cgacgaatct tccggccgcc tgagatagaa	600
	agtactaaaa atgcgaaact tgtgggcaat gatagtatgt atgcttcctc cctaattaat	660
30	taaattaatc tcaaattctt gatcaccatc aaggaccca aatcttggtg gtttaggaag	720
	gcctctcttg tggttaacat ccaatcacia gtctaaatcc aatggatggg actcnaattt	780
35	ttctgtgtag tattagtgag acatgatgat agtacaattt gatttgttat taattggtta	840
	ttaattaaag gtgattngga tcaactgagac tttatgtggt caagaatgct tccctgtatt	900
40	gtatgagtga ccaactaccac tcgatatttt tttccttcca tcttggtga gtcctgtctt	960
	gtgtttgttt attggtatct caatgtactg ggcttaccac ttgtatggac agtattgtta	1020
45	cactaacaca gtgtgtaccc cccagtcgtg ttagcttgaa tgggaagacc atgatcaaaa	1080
	aaaaaaaaaa aaaaaa	1096
50	<210> 1101	
	<211> 1397	
	<212> ADN	
	<213> <i>Zea mays</i>	
55	<400> 1101	

ES 2 380 017 T3

5 cccacgcgtc cgcccacgcg tccggaccag cccacgggtca gtagccatcg gccactacca 60
 gcctcggggcg ctggctgtgg cctgtggggct gggcggggcc cctttaaatg ccggccatac 120
 gcgcggccta aagcctccag agccacgctg cttcccggcc gaagcctccg tccgcgcca 180
 cggtttccat tccatcccc aggcttgcgc cgactcgcca cttgcaccgc cggccggttt 240
 10 cgccgaacgc ctgcgcca cccgcgcgcg gagacctgca tataagccgg ccgcgtgtcg 300
 tccggcgctc ccgggacagg cgatccgttc gtcacccgct gcaaaccacc aggaccagc 360
 15 tccgcgcgca gaggccggag gactacgacc gacgagggcg acgaacacca aggctccgaa 420
 gtccgaggag gcaggaagcg ggagacgtcg ggaatgggcg ctgctcgtga ctccacggcg 480
 gcggggcaga agcgcggcac cggcacgcgg tgcgagctct gcggggggcg ggcggccgtg 540
 20 cactgcgccg cggactcggc gttcctctgc ctgcgctgcg acgccaaggt gcacggcgcc 600
 aacttcctgg cgtccaggca cgtgaggcgg cgcctggtgc cgcgccgggc cgccgacccc 660
 25 gaggcgtcgt cggccgcgtc cagcggctcc tcctgcgtgt ccacggccga ctccgcggag 720
 tcggccgcca cggcaccggc tccgtgccct tcgaggacgg cggggaggag ggctccggct 780
 cgggcgcggc ggccgcgcgc ggaggcggtc ctggaggggt gggccaagcg gatggggttc 840
 30 gcggcggggc cggcgcgccg gcgcgccgcg gcggcggccg ccgcgctccg ggcgctcggc 900
 cggggcgtgg ccgctgcccg cgtgccgctc cgcgctggga tggccggcg gctctggctg 960
 35 gagggtccccg ccgggtgccg aggcaatgga ggggaggagg cctcgtgct ccagcggctg 1020
 gaggcccccg cgcacgtgcc ggcgcggctg gtgctgacct ccgcgctcgtg gatggcgcgc 1080
 cggccggacg cccggcagga ggaccccag gagggatggg ccgagtgtc ctgagttcct 1140
 40 gatccagacg ggcccacgtc cgttgctgcc gtgccgccgc tgcacctgca ctgtgtaccg 1200
 agccggacct ccgagataga ctcgggagaa aatgtaaca acgtgtgggg ctgtgggcca 1260
 45 cgtttgtttg ttgttcttt ttcttcttaa tcatataaat atatcgtagg cgtacgagcg 1320
 aggggtccaag ggattgatcg tgtggctggt tggctgcctc tcgtcaagcc gattgtggtt 1380
 tgacttgttt cccccc 1397

50 <210> 1102
 <211> 856
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 55 <400> 1102

60 tccgcgcccc ggtttccttc cccccacg cccagcttgc gccgactcgc cacttgtacc 60
 gccggccggg ttcgccgaag gacgaaacgc ctgcgcgcg gagacctgca tataagccgg 120
 ccgcgtgtcg tccggcgctc ccggtacagg cgatccgttc atcatccgct gcaaaccacc 180
 65 aggaccagc tccgcgcgca gaggccggag gactacgacc gacgagggcg acgaacacca 240

ES 2 380 017 T3

aggctccgaa gtccgaggag gcaggaagcg ggaggacgtc gggaaatgggc gctgctcgtg 300
actccgcggc ggcgggcccag aagcacggca ccggcacgcy gtgcyagctc tgcgggggcy 360
5 cggcggcccgt gcactgcgcc gcggactcgg cgttcctctg cctgcgctgc gacgccaagg 420
tgcacggcgc caacttcctg gcgtccaggc acgtgaggcy gcgcctggtg ccgcgccggg 480
10 ccgccgaccc cgaggcgtcg tcggccgcgt ccagcggctc ctctgcgtg tccacggccc 540
actccgcgga gtcggccgcc acggcaccgg ctccgtgccc ttcgaggacg gcggggagga 600
gggctccggc tcgtgcgcyg cggccgcgcy cggaggcgggt cctggagggg tgggccaagc 660
15 ggatgggggt cgcgccgggg ccggcgcgcc ggcgcgcacg tgccggcgcg gctggtgctg 720
accgccgcgt cgtggatggc gcgccggccg gacgcccgcc aggaggacca ctaggaggga 780
20 tgggccgagt gctcctgagt tcctgatcca gacgggcccga cgtccgttgc tgccgtgccg 840
ccgctgcacc tgcaact 856

25 <210> 1103
<211> 698
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<220>
30 <221> misc_feature
<222> (588)..(588)
<223> n e s a, c, g, o t
<400> 1103

35 gccgggttcc gacgcttaat cgcttcgctt ccgccctcca tcgatcacct ccaaagatcg 60
agagcggctc gctcgtcaag cgctccatcg agccggcgggt gcaggagcca aatcatatat 120
40 atataggcgg acaggaggaa gacccgccga tgggtcacca ccgcggccgc tgccgctgcg 180
agcgtgcyg cgccccgcc gccgtgcaact gcgcggcggga cgcggcctc ctctgcgccg 240
cctgcgacgc caaggtgcac ggcgccaact tcctcgcgct gcgccaccgc cgcacgcgcc 300
45 tcctcctcgc ggcgccggac gagtgcgggt acgagtccgg ggcgagctcc tgcgtgtcca 360
cggcggctga ctcggcggcg cgggcgctcc gggcccacgc ccacggcctc gcctccgcgc 420
gcgtcgccat ggccgccgcg ctgtggcggg aggtggcgggt gcgcggcggg accggcggcy 480
50 gcggccacgg tcacggcgag gcgctgcggc ggctggaggc gtgcygcac gtgccggcyg 540
ggctcgtggt ggcggtggcc aagtccatgg cgcgcgcgcg cgggcggngg gacgaggccc 600
55 acacggacgc cgcggcggag ggctgggacg agtgcgcctg ggccggtccc aagtccagcc 660
cgccacgtcc ttgatctttt ctctgtctcg ctgatgaa 698

60 <210> 1104
<211> 552
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1104

65

ES 2 380 017 T3

	gccggccggg tcgggaacag cttccacat cgaccatcca tcacctacc tccaagctcc	60
5	aaggaatcta ccctcgttct tctcacaag cgctgcagcg gacagcagcg cagcacgaga	120
10	gagccgagcg cgaggtgcag gaccgcaaaa cagagggcga gccaaggacc taacctacgt	180
	agcaacgctc cgctccgcgg cgatgggcca cgaggggtcg tgccgctgcy agctctgcgg	240
	cgcgcccgcg gccgtgact gcgcggcgga cgaggctttc ctctgcgcc cctgcgacgc	300
15	caaggtgcac ggcgccaact tcctcgcgtc gcggcaccgc cgcacgcgcc tccgcctcgc	360
	ggccgcccgc cccccccgc cgcacgacga ggccgggtac gggcccgcgc cgagctcctg	420
	cgtgtccacg gccgactccg cgccgcggcc gaggcgtggg gcccgcgcg cggcccggag	480
20	cgtgcgcccc gagggcgtgc tcgagggctg gggccagcgg atggggctcg gggcgggggg	540
	gcgcccgcgc gt	552
25	<210> 1105 <211> 0 <212> ADN <213> <i>Glycine max</i> <400> 1105	
30	000 <210> 1106 <211> 0 <212> ADN <213> <i>Glycine max</i> <400> 1106	
35	000 <210> 1107 <211> 0 <212> ADN <213> <i>Oryza sativa</i> <400> 1107	
40	000 <210> 1108 <211> 0 <212> ADN <213> <i>Glycine max</i> <400> 1108	
45	000 <210> 1109 <211> 0 <212> ADN <213> <i>Glycine max</i> <400> 1109	
50	000 <210> 1110 <211> 0 <212> ADN <213> <i>Glycine max</i> <400> 1110	
55	000 <210> 1111 <211> 0 <212> ADN <213> <i>Glycine max</i> <400> 1111	
60	000 <210> 1111 <211> 0 <212> ADN <213> <i>Glycine max</i> <400> 1111	
65	000	

<210> 1112
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 5 <400> 1112
 000
 <210> 1113
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Zea mays*
 <400> 1113
 000
 <210> 1114
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1114
 000
 <210> 1115
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1115
 000
 25 <210> 1116
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1116
 30 000
 <210> 1117
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 35 <400> 1117
 000
 <210> 1118
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Glycine max*
 <400> 1118
 000
 <210> 1119
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1119
 000
 <210> 1120
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1120
 000
 55 <210> 1121
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1121
 60 000
 <210> 1122
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 65 <400> 1122
 000

<210> 1123
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 5 <400> 1123
 000
 <210> 1124
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Zea mays*
 <400> 1124
 000
 <210> 1125
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1125
 000
 <210> 1126
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1126
 000
 20 <210> 1127
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1127
 000
 25 <210> 1128
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1128
 000
 30 <210> 1129
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1129
 000
 35 <210> 1130
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1130
 000
 40 <210> 1131
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1131
 000
 45 <210> 1132
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1132
 000
 50 <210> 1133
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1133
 000
 55 <210> 1133
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1133
 000
 60 <210> 1133
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1133
 000
 65 <210> 1133
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1133
 000

<210> 1134
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 5 <400> 1134
 000
 <210> 1135
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Zea mays*
 <400> 1135
 000
 <210> 1136
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1136
 000
 <210> 1137
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Glycine max*
 <400> 1137
 000
 25 <210> 1138
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1138
 30 000
 <210> 1139
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 35 <400> 1139
 000
 <210> 1140
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Glycine max*
 <400> 1140
 000
 <210> 1141
 <211> 0
 <212> ADN
 45 <213> *Glycine max*
 <400> 1141
 000
 <210> 1142
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 50 <400> 1142
 000
 <210> 1143
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1143
 55 000
 <210> 1144
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 1144
 000
 <210> 1144
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 65 <400> 1144
 000

<210> 1145
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 5 <400> 1145
 000
 <210> 1146
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Glycine max*
 <400> 1146
 000
 <210> 1147
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1147
 000
 <210> 1148
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1148
 000
 25 <210> 1149
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1149
 30 000
 <210> 1150
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 35 <400> 1150
 000
 <210> 1151
 <211> 0
 <212> PRT
 40 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1151
 000
 <210> 1152
 <211> 0
 45 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1152
 000
 <210> 1153
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Zea mays*
 <400> 1153
 000
 <210> 1154
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1154
 60 000
 <210> 1155
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 65 <400> 1155
 000

<210> 1156
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 5 <400> 1156
 000
 <210> 1157
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Zea mays*
 <400> 1157
 000
 <210> 1158
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1158
 000
 <210> 1159
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1159
 000
 25 <210> 1160
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 30 <400> 1160
 000
 <210> 1161
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 1161
 000
 <210> 1162
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1162
 000
 <210> 1163
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1163
 000
 50 <210> 1164
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1164
 55 000
 <210> 1165
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 1165
 000
 <210> 1166
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Glycine max*
 <400> 1166

000
 <210> 1167
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Glycine max*
 <400> 1167
 000
 <210> 1168
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1168
 000
 <210> 1169
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1169
 000
 20 <210> 1170
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1170
 25 000
 <210> 1171
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 30 <400> 1171
 000
 <210> 1172
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Zea mays*
 <400> 1172
 000
 <210> 1173
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1173
 000
 <210> 1174
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1174
 000
 50 <210> 1175
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1175
 55 000
 <210> 1176
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 1176
 000
 <210> 1177
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Glycine max*
 <400> 1177

000
 <210> 1178
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Glycine max*
 <400> 1178
 000
 <210> 1179
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1179
 000
 <210> 1180
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1180
 000
 20 <210> 1181
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1181
 25 000
 <210> 1182
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 30 <400> 1182
 000
 <210> 1183
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1183
 000
 <210> 1184
 <211> 0
 40 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1184
 000
 <210> 1185
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1185
 000
 50 <210> 1186
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1186
 55 000
 <210> 1187
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 60 <400> 1187
 000
 <210> 1188
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Zea mays*
 <400> 1188

000
<210> 1189
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Zea mays*
<400> 1189
000
<210> 1190
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1190
000
<210> 1191
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1191
000
20 <210> 1192
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1192
25 000
<210> 1193
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
30 <400> 1193
000
<210> 1194
<211> 0
<212> PRT
35 <213> *Oryza sativa*
<400> 1194
000
<210> 1195
<211> 0
40 <212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 1195
000
<210> 1196
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1196
000
50 <210> 1197
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 1197
55 000
<210> 1198
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
60 <400> 1198
000
<210> 1199
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Zea mays*
<400> 1199

000
 <210> 1200
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1200
 000
 <210> 1201
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1201
 000
 <210> 1202
 15 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1202
 000
 20 <210> 1203
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1203
 25 000
 <210> 1204
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 30 <400> 1204
 000
 <210> 1205
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Zea mays*
 <400> 1205
 000
 <210> 1206
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1206
 000
 <210> 1207
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1207
 45 000
 <210> 1208
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1208
 50 000
 <210> 1209
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 1209
 000
 <210> 1210
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Glycine max*
 <400> 1210
 000
 <210> 1210
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Glycine max*
 <400> 1210

000
 <210> 1211
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Glycine max*
 <400> 1211
 000
 <210> 1212
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1212
 000
 <210> 1213
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1213
 000
 20 <210> 1214
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1214
 25 000
 <210> 1215
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 1215
 000
 <210> 1216
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1216
 000
 <210> 1217
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1217
 000
 <210> 1218
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1218
 000
 50 <210> 1219
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1219
 55 000
 <210> 1220
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 60 <400> 1220
 000
 <210> 1221
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1221

000
 <210> 1222
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Zea mays*
 <400> 1222
 000
 <210> 1223
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1223
 000
 <210> 1224
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1224
 000
 20 <210> 1225
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1225
 25 000
 <210> 1226
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 30 <400> 1226
 000
 <210> 1227
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Zea mays*
 <400> 1227
 000
 <210> 1228
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1228
 000
 <210> 1229
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1229
 000
 50 <210> 1230
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1230
 55 000
 <210> 1231
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 1231
 000
 <210> 1232
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1232

000
<210> 1233
<211> 0
<212> PRT
5 <213> *Oryza sativa*
<400> 1233
000
<210> 1234
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1234
000
<210> 1235
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1235
000
20 <210> 1236
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1236
25 000
<210> 1237
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
30 <400> 1237
000
<210> 1238
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Glycine max*
<400> 1238
000
<210> 1239
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1239
000
<210> 1240
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1240
000
50 <210> 1241
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 1241
55 000
<210> 1242
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
60 <400> 1242
000
<210> 1243
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Zea mays*
<400> 1243

000
<210> 1244
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Glycine max*
<400> 1244
000
<210> 1245
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1245
000
<210> 1246
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1246
000
20 <210> 1247
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1247
25 000
<210> 1248
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
30 <400> 1248
000
<210> 1249
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Glycine max*
<400> 1249
000
<210> 1250
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1250
000
<210> 1251
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1251
000
50 <210> 1252
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 1252
55 000
<210> 1253
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
60 <400> 1253
000
<210> 1254
<211> 0
<212> PRT
65 <213> *Oryza sativa*
<400> 1254

000
<210> 1255
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Zea mays*
<400> 1255
000
<210> 1256
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1256
000
<210> 1257
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1257
000
20 <210> 1258
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1258
25 000
<210> 1259
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
30 <400> 1259
000
<210> 1260
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Zea mays*
<400> 1260
000
<210> 1261
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1261
000
<210> 1262
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1262
000
50 <210> 1263
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1263
55 000
<210> 1264
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
60 <400> 1264
000
<210> 1265
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Glycine max*
<400> 1265

000
 <210> 1266
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Glycine max*
 <400> 1266
 000
 <210> 1267
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1267
 000
 <210> 1268
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1268
 000
 20 <210> 1269
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1269
 25 000
 <210> 1270
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 1270
 000
 <210> 1271
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1271
 000
 <210> 1272
 <211> 0
 40 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1272
 000
 <210> 1273
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1273
 000
 50 <210> 1274
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1274
 55 000
 <210> 1275
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 60 <400> 1275
 000
 <210> 1276
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1276

000
 <210> 1277
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Zea mays*
 <400> 1277
 000
 <210> 1278
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1278
 000
 <210> 1279
 15 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1279
 000
 20 <210> 1280
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1280
 25 000
 <210> 1281
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 1281
 000
 <210> 1282
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 1282
 000
 <210> 1283
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1283
 000
 <210> 1284
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1284
 000
 50 <210> 1285
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1285
 55 000
 <210> 1286
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 60 <400> 1286
 000
 <210> 1287
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1287

000
<210> 1288
<211> 0
<212> PRT
5 <213> *Oryza sativa*
<400> 1288
000
<210> 1289
<211> 0
10 <212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 1289
000
<210> 1290
15 <211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 1290
000
20 <210> 1291
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 1291
25 000
<210> 1292
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
30 <400> 1292
000
<210> 1293
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Zea mays*
<400> 1293
000
<210> 1294
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1294
000
<210> 1295
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1295
000
50 <210> 1296
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1296
55 000
<210> 1297
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
60 <400> 1297
000
<210> 1298
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Zea mays*
<400> 1298

000
 <210> 1299
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Zea mays*
 <400> 1299
 000
 <210> 1300
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1300
 000
 <210> 1301
 15 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1301
 000
 20 <210> 1302
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1302
 25 000
 <210> 1303
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 1303
 000
 <210> 1304
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 1304
 000
 <210> 1305
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1305
 000
 <210> 1306
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1306
 000
 50 <210> 1307
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 1307
 000
 <210> 1308
 <211> 0
 <212> PRT
 60 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1308
 000
 <210> 1309
 <211> 0
 65 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*

<400> 1309
000
<210> 1310
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1310
000
10 <210> 1311
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1311
000
15 <210> 1312
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1312
20 000
<210> 1313
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
25 <400> 1313
000
<210> 1314
<211> 0
<212> ADN
30 <213> *Glycine max*
<400> 1314
000
<210> 1315
<211> 0
35 <212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 1315
000
<210> 1316
40 <211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1316
000
45 <210> 1317
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 1317
50 000
<210> 1318
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
55 <400> 1318
000
<210> 1319
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Glycine max*
<400> 1319
000
<210> 1320
<211> 0
65 <212> ADN
<213> *Glycine max*

<400> 1320
 000
 <210> 1321
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1321
 000
 10 <210> 1322
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1322
 000
 15 <210> 1323
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1323
 20 000
 <210> 1324
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 1324
 000
 <210> 1325
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Glycine max*
 <400> 1325
 000
 <210> 1326
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1326
 000
 <210> 1327
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1327
 000
 45 <210> 1328
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1328
 50 000
 <210> 1329
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 1329
 000
 <210> 1330
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Glycine max*
 <400> 1330
 000
 <210> 1331
 <211> 0
 65 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*

<400> 1331
 000
 <210> 1332
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1332
 000
 <210> 1333
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1333
 000
 <210> 1334
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1334
 20 000
 <210> 1335
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 25 <400> 1335
 000
 <210> 1336
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 30 <400> 1336
 000
 <210> 1337
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 35 <400> 1337
 000
 <210> 1338
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1338
 40 000
 <210> 1339
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1339
 50 000
 <210> 1340
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 1340
 000
 <210> 1341
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 60 <400> 1341
 000
 <210> 1342
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 65 <400> 1342
 000

<400> 1342
 000
 <210> 1343
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1343
 000
 10 <210> 1344
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1344
 000
 15 <210> 1345
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1345
 20 000
 <210> 1346
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 1346
 000
 <210> 1347
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Glycine max*
 <400> 1347
 000
 <210> 1348
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1348
 000
 <210> 1349
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1349
 000
 45 <210> 1350
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1350
 50 000
 <210> 1351
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 1351
 000
 <210> 1352
 <211> 0
 <212> PRT
 60 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1352
 000
 <210> 1353
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1353
 000
 <210> 1354
 <211> 0
 5 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1354
 000
 <210> 1355
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1355
 000
 <210> 1356
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1356
 20 000
 <210> 1357
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 25 <400> 1357
 000
 <210> 1358
 <211> 0
 <212> PRT
 30 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1358
 000
 <210> 1359
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1359
 000
 <210> 1360
 40 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1360
 000
 <210> 1361
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1361
 50 000
 <210> 1362
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 1362
 000
 <210> 1363
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1363
 000
 <210> 1364
 <211> 0
 65 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1364
 000
 <210> 1365
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1365
 000
 <210> 1366
 10 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1366
 000
 <210> 1367
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1367
 20 000
 <210> 1368
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 25 <400> 1368
 000
 <210> 1369
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1369
 000
 <210> 1370
 <211> 0
 35 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1370
 000
 <210> 1371
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1371
 000
 45 <210> 1372
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1372
 50 000
 <210> 1373
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 55 <400> 1373
 000
 <210> 1374
 <211> 0
 <212> PRT
 60 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1374
 000
 <210> 1375
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1375
000
<210> 1376
<211> 0
5 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 1376
000
10 <210> 1377
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 1377
000
15 <210> 1378
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 1378
20 000
<210> 1379
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
25 <400> 1379
000
<210> 1380
<211> 0
<212> PRT
30 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 1380
000
<210> 1381
<211> 0
35 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 1381
000
<210> 1382
40 <211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 1382
000
45 <210> 1383
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 1383
50 000
<210> 1384
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
55 <400> 1384
000
<210> 1385
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 1385
000
<210> 1386
<211> 0
65 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1386
000
<210> 1387
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1387
000
10 <210> 1388
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1388
000
15 <210> 1389
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1389
000
20 <210> 1390
<211> 0
<212> PRT
25 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1390
000
<210> 1391
<211> 0
30 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1391
000
35 <210> 1392
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1392
000
40 <210> 1393
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1393
000
45 <210> 1394
<211> 0
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1394
000
50 <210> 1395
<211> 0
<212> ADN
55 <213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1395
000
<210> 1396
<211> 0
60 <212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*

<400> 1396
000
<210> 1397
65 <211> 0
<212> ADN

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1397
 000
 <210> 1398
 5 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1398
 000
 10 <210> 1399
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1399
 15 000
 <210> 1400
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1400
 000
 <210> 1401
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1401
 000
 <210> 1402
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1402
 000
 <210> 1403
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1403
 000
 40 <210> 1404
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1404
 45 000
 <210> 1405
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1405
 000
 <210> 1406
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1406
 000
 <210> 1407
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1407
 000
 <210> 1408
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1408
 000
 <210> 1409
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1409
 000
 10 <210> 1410
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1410
 15 000
 <210> 1411
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1411
 000
 <210> 1412
 <211> 0
 <212> PRT
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1412
 000
 <210> 1413
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1413
 000
 <210> 1414
 35 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1414
 000
 40 <210> 1415
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1415
 45 000
 <210> 1416
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1416
 000
 <210> 1417
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1417
 000
 <210> 1418
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1418
 000
 <210> 1419
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1419
 000
 <210> 1420
 5 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1420
 000
 10 <210> 1421
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1421
 15 000
 <210> 1422
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1422
 000
 <210> 1423
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1423
 000
 <210> 1424
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1424
 000
 <210> 1425
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1425
 000
 40 <210> 1426
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1426
 45 000
 <210> 1427
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1427
 000
 <210> 1428
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1428
 000
 <210> 1429
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1429
 000
 <210> 1430
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1430
 000
 <210> 1431
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1431
 000
 10 <210> 1432
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1432
 15 000
 <210> 1433
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1433
 000
 <210> 1434
 <211> 0
 <212> PRT
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1434
 000
 <210> 1435
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1435
 000
 <210> 1436
 35 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1436
 000
 40 <210> 1437
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1437
 45 000
 <210> 1438
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1438
 000
 <210> 1439
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1439
 000
 <210> 1440
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1440
 000
 <210> 1441
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1441
 000
 <210> 1442
 5 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1442
 000
 10 <210> 1443
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1443
 15 000
 <210> 1444
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1444
 000
 <210> 1445
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1445
 000
 <210> 1446
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1446
 000
 <210> 1447
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1447
 000
 40 <210> 1448
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1448
 45 000
 <210> 1449
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1449
 000
 <210> 1450
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1450
 000
 <210> 1451
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1451
 000
 <210> 1452
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1452
 000
 <210> 1453
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1453
 000
 10 <210> 1454
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1454
 15 000
 <210> 1455
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1455
 000
 <210> 1456
 <211> 0
 <212> PRT
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1456
 000
 <210> 1457
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1457
 000
 <210> 1458
 35 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1458
 000
 40 <210> 1459
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1459
 45 000
 <210> 1460
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1460
 000
 <210> 1461
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1461
 000
 <210> 1462
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1462
 000
 <210> 1463
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1463
 000
 <210> 1464
 5 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1464
 000
 10 <210> 1465
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1465
 15 000
 <210> 1466
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1466
 000
 <210> 1467
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1467
 000
 <210> 1468
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1468
 000
 <210> 1469
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1469
 000
 40 <210> 1470
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1470
 45 000
 <210> 1471
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1471
 000
 <210> 1472
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1472
 000
 <210> 1473
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1473
 000
 <210> 1474
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1474
 000
 <210> 1475
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1475
 000
 10 <210> 1476
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1476
 15 000
 <210> 1477
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1477
 000
 <210> 1478
 <211> 0
 <212> PRT
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1478
 000
 <210> 1479
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1479
 000
 <210> 1480
 35 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1480
 000
 40 <210> 1481
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1481
 45 000
 <210> 1482
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1482
 000
 <210> 1483
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1483
 000
 <210> 1484
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1484
 000
 <210> 1485
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1485
 000
 <210> 1486
 5 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1486
 000
 10 <210> 1487
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1487
 15 000
 <210> 1488
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1488
 000
 <210> 1489
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1489
 000
 <210> 1490
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1490
 000
 <210> 1491
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1491
 000
 40 <210> 1492
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1492
 45 000
 <210> 1493
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1493
 000
 <210> 1494
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1494
 000
 <210> 1495
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1495
 000
 <210> 1496
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1496
 000
 <210> 1497
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1497
 000
 10 <210> 1498
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1498
 15 000
 <210> 1499
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1499
 000
 <210> 1500
 <211> 0
 <212> PRT
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1500
 000
 <210> 1501
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1501
 000
 <210> 1502
 35 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1502
 000
 40 <210> 1503
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1503
 45 000
 <210> 1504
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1504
 000
 <210> 1505
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1505
 000
 <210> 1506
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1506
 000
 <210> 1507
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1507
 000
 <210> 1508
 5 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1508
 000
 10 <210> 1509
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1509
 15 000
 <210> 1510
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1510
 000
 <210> 1511
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1511
 000
 <210> 1512
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1512
 000
 <210> 1513
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1513
 000
 40 <210> 1514
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1514
 45 000
 <210> 1515
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1515
 000
 <210> 1516
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1516
 000
 <210> 1517
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1517
 000
 <210> 1518
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1518
 000
 <210> 1519
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1519
 000
 10 <210> 1520
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1520
 15 000
 <210> 1521
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1521
 000
 <210> 1522
 <211> 0
 <212> PRT
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1522
 000
 <210> 1523
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1523
 000
 <210> 1524
 35 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1524
 000
 40 <210> 1525
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1525
 45 000
 <210> 1526
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1526
 000
 <210> 1527
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1527
 000
 <210> 1528
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1528
 000
 <210> 1529
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1529
 000
 <210> 1530
 5 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1530
 000
 10 <210> 1531
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1531
 15 000
 <210> 1532
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1532
 000
 <210> 1533
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1533
 000
 <210> 1534
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1534
 000
 <210> 1535
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1535
 000
 40 <210> 1536
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1536
 45 000
 <210> 1537
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1537
 000
 <210> 1538
 <211> 0
 <212> PRT
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1538
 000
 <210> 1539
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1539
 000
 <210> 1540
 65 <211> 0
 <212> PRT

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1540
 000
 <210> 1541
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1541
 000
 10 <210> 1542
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1542
 15 000
 <210> 1543
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1543
 000
 <210> 1544
 <211> 0
 <212> PRT
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1544
 000
 <210> 1545
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1545
 000
 <210> 1546
 35 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1546
 000
 40 <210> 1547
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1547
 45 000
 <210> 1548
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 50 <400> 1548
 000
 <210> 1549
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1549
 000
 <210> 1550
 <211> 0
 60 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1550
 000
 <210> 1551
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1551
 000
 <210> 1552
 5 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1552
 000
 10 <210> 1553
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1553
 15 000
 <210> 1554
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 20 <400> 1554
 000
 <210> 1555
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1555
 000
 <210> 1556
 <211> 0
 30 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 1556
 000
 <210> 1557
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1557
 000
 40 <210> 1558
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1558
 45 000
 <210> 1559
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 50 <400> 1559
 000
 <210> 1560
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1560
 000
 <210> 1561
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1561
 000
 <210> 1562
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Oryza sativa*
 <400> 1562
 000
 <210> 1563
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1563
 000
 10 <210> 1564
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1564
 15 000
 <210> 1565
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 20 <400> 1565
 000
 <210> 1566
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1566
 000
 <210> 1567
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1567
 000
 <210> 1568
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1568
 000
 40 <210> 1569
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1569
 45 000
 <210> 1570
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 50 <400> 1570
 000
 <210> 1571
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1571
 000
 <210> 1572
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1572
 000
 <210> 1573
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Oryza sativa*
 <400> 1573
 000
 <210> 1574
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1574
 000
 10 <210> 1575
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1575
 15 000
 <210> 1576
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 20 <400> 1576
 000
 <210> 1577
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1577
 000
 <210> 1578
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1578
 000
 <210> 1579
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1579
 000
 40 <210> 1580
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1580
 45 000
 <210> 1581
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 50 <400> 1581
 000
 <210> 1582
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1582
 000
 <210> 1583
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1583
 000
 <210> 1584
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Oryza sativa*
<400> 1584
000
5 <210> 1585
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1585
000
10 <210> 1586
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1586
15 000
<210> 1587
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
20 <400> 1587
000
<210> 1588
<211> 0
<212> ADN
25 <213> *Oryza sativa*
<400> 1588
000
<210> 1589
<211> 0
30 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1589
000
<210> 1590
35 <211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1590
000
40 <210> 1591
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1591
45 000
<210> 1592
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
50 <400> 1592
000
<210> 1593
<211> 0
<212> ADN
55 <213> *Oryza sativa*
<400> 1593
000
<210> 1594
<211> 0
60 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1594
000
<210> 1595
65 <211> 0
<212> ADN

<213> *Oryza sativa*
 <400> 1595
 000
 <210> 1596
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1596
 000
 10 <210> 1597
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1597
 15 000
 <210> 1598
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 20 <400> 1598
 000
 <210> 1599
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1599
 000
 <210> 1600
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1600
 000
 <210> 1601
 35 <211> 516
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <220>
 <221> misc_feature
 40 <222> (337)..(337)
 <223> n es a, c, g, o t
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (449)..(449)
 45 <223> n es a, c, g, o t
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (495)..(495)
 <223> n es a, c, g, o t
 50 <400> 1601

55

60

65

ES 2 380 017 T3

ttaaaagcta ggctccaaaa tttctcaaat cgttattaca caagacaaaa taatacacca 60
 5 acaattaatt acctccatat atatataata aagaaaagaa aagaagaagc aacgaattgc 120
 atatcgcaca ccctgcaaaa ccttgaattt taacttttgc atgctgtaat taagtagttc 180
 tagaactcct aatcatctgg ccgtaccaa taatgctgctt aaataaaata ccaaattgat 240
 10 cacaacctta aacacacacc tgaaaatgga acaacaaacg aagttattag aatttttttt 300
 aatttgttct aacgtaccag ccttattgga gtagggntta ttgtctcttg taattgatca 360
 aatcatccct ggcttccaga ggtgagggaa gcttcttgct gagctcagtg tgagctgccc 420
 15 ttgctgagtg tcgaggctat ctacagggna ctgctcggct gcagcctctt tcagggggat 480
 ccgcggcttc cggngtgga gcggcctgtg gtgagc 516

20
 <210> 1602
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 1602
 000
 <210> 1603
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1603
 000
 <210> 1604
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1604
 000
 <210> 1605
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1605
 000
 45 <210> 1606
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1606
 50 000
 <210> 1607
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 1607
 000
 <210> 1608
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1608
 000
 <210> 1609
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*

<400> 1609
000
<210> 1610
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1610
000
10 <210> 1611
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1611
000
15 <210> 1612
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1612
20 000
<210> 1613
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
25 <400> 1613
000
<210> 1614
<211> 0
<212> ADN
30 <213> *Oryza sativa*
<400> 1614
000
<210> 1615
<211> 0
35 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1615
000
<210> 1616
40 <211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1616
000
45 <210> 1617
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 1617
50 000
<210> 1618
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
55 <400> 1618
000
<210> 1619
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Oryza sativa*
<400> 1619
000
<210> 1620
<211> 0
65 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*

<400> 1620
 000
 <210> 1621
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1621
 000
 10 <210> 1622
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1622
 000
 15 <210> 1623
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1623
 20 000
 <210> 1624
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 25 <400> 1624
 000
 <210> 1625
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1625
 000
 <210> 1626
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1626
 000
 <210> 1627
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1627
 000
 45 <210> 1628
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1628
 50 000
 <210> 1629
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 55 <400> 1629
 000
 <210> 1630
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Oryza sativa*
 <400> 1630
 000
 <210> 1631
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*

<400> 1631
 000
 <210> 1632
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1632
 000
 10 <210> 1633
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1633
 000
 15 <210> 1634
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1634
 20 000
 <210> 1635
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 1635
 000
 <210> 1636
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Glycine max*
 <400> 1636
 000
 <210> 1637
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1637
 000
 <210> 1638
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1638
 000
 45 <210> 1639
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1639
 50 000
 <210> 1640
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 1640
 000
 <210> 1641
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Glycine max*
 <400> 1641
 000
 <210> 1642
 <211> 0
 65 <212> ADN
 <213> *Glycine max*

<400> 1642
 000
 <210> 1643
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1643
 000
 <210> 1644
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1644
 000
 <210> 1645
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1645
 20 000
 <210> 1646
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <<400> 1646
 000
 <210> 1647
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 1647
 000
 <210> 1648
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 35 <400> 1648
 000
 <210> 1649
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1649
 000
 <210> 1650
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1650
 50 000
 <210> 1651
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 1651
 000
 <210> 1652
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 1652
 000
 <210> 1653
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 65 <400> 1653
 000

<400> 1653
000
<210> 1654
<211> 0
5 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1654
000
10 <210> 1655
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1655
000
15 <210> 1656
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1656
20 000
<210> 1657
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
25 <400> 1657
000
<210> 1658
<211> 0
<212> ADN
30 <213> *Glycine max*
<400> 1658
000
<210> 1659
<211> 0
35 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1659
000
<210> 1660
40 <211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1660
000
45 <210> 1661
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 1661
50 000
<210> 1662
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
55 <400> 1662
000
<210> 1663
<211> 0
<212> ADN
60 <213> *Glycine max*
<400> 1663
000
<210> 1664
<211> 0
65 <212> ADN
<213> *Glycine max*

<400> 1664
 000
 <210> 1665
 <211> 0
 5 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1665
 000
 <210> 1666
 10 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1666
 000
 <210> 1667
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1667
 20 000
 <210> 1668
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 25 <400> 1668
 000
 <210> 1669
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1669
 000
 <210> 1670
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1670
 000
 <210> 1671
 40 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1671
 45 000
 <210> 1672
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 50 <400> 1672
 000
 <210> 1673
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 55 <400> 1673
 000
 <210> 1674
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1674
 000
 <210> 1675
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Glycine max*
 <400> 1675
 000
 <210> 1676
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1676
 000
 10 <210> 1677
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1677
 15 000
 <210> 1678
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 20 <400> 1678
 000
 <210> 1679
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Glycine max*
 <400> 1679
 000
 <210> 1680
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1680
 000
 <210> 1681
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1681
 000
 40 <210> 1682
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1682
 45 000
 <210> 1683
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 50 <400> 1683
 000
 <210> 1684
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Glycine max*
 <400> 1684
 000
 <210> 1685
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1685
 000
 <210> 1686
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> *Glycine max*
 <400> 1686
 000
 <210> 1687
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1687
 000
 10 <210> 1688
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 1688
 15 000
 <210> 1689
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 20 <400> 1689
 000
 <210> 1690
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Medicago truncatula*
 <400> 1690
 000
 <210> 1691
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> *Medicago truncatula*
 <400> 1691
 000
 <210> 1692
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Medicago truncatula*
 <400> 1692
 000
 40 <210> 1693
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Medicago truncatula*
 <400> 1693
 45 000
 <210> 1694
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Medicago truncatula*
 50 <400> 1694
 000
 <210> 1695
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Medicago truncatula*
 <400> 1695
 000
 <210> 1696
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> *Medicago truncatula*
 <400> 1696
 000
 <210> 1697
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> Medicago truncatula
 <400> 1697
 000
 <210> 1698
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Medicago truncatula
 <400> 1698
 000
 10 <210> 1699
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Medicago truncatula
 <400> 1699
 15 000
 <210> 1700
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Medicago truncatula
 20 <400> 1700
 000
 <210> 1701
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> Medicago truncatula
 <400> 1701
 000
 <210> 1702
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> Medicago truncatula
 <400> 1702
 000
 <210> 1703
 35 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Medicago truncatula
 <400> 1703
 000
 40 <210> 1704
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Medicago truncatula
 <400> 1704
 45 000
 <210> 1705
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Medicago truncatula
 50 <400> 1705
 000
 <210> 1706
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> Medicago truncatula
 <400> 1706
 000
 <210> 1707
 <211> 0
 60 <212> ADN
 <213> Medicago truncatula
 <400> 1707
 000
 <210> 1708
 65 <211> 0
 <212> ADN

<213> Medicago truncatula
<400> 1708
000
<210> 1709
5 <211> 0
<212> ADN
<213> Medicago truncatula
<400> 1709
000
10 <210> 1710
<211> 0
<212> ADN
<213> Medicago truncatula
<400> 1710
15 000
<210> 1711
<211> 0
<212> ADN
<213> Medicago truncatula
20 <400> 1711
000
<210> 1712
<211> 0
<212> ADN
25 <213> Medicago truncatula
<400> 1712
000
<210> 1713
<211> 0
30 <212> ADN
<213> Medicago truncatula
<400> 1713
000
<210> 1714
35 <211> 0
<212> ADN
<213> Medicago truncatula
<400> 1714
000
40 <210> 1715
<211> 0
<212> ADN
<213> Medicago truncatula
<400> 1715
45 000
<210> 1716
<211> 0
<212> ADN
<213> Medicago truncatula
50 <400> 1716
000
<210> 1717
<211> 0
<212> ADN
55 <213> Medicago truncatula
<400> 1717
000
<210> 1718
<211> 0
60 <212> ADN
<213> Hordeum vulgare
<400> 1718
000
<210> 1719
65 <211> 0
<212> ADN

<213> Hordeum vulgare
 <400> 1719
 000
 <210> 1720
 5 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1720
 000
 10 <210> 1721
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1721
 15 000
 <210> 1722
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 20 <400> 1722
 000
 <210> 1723
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1723
 000
 <210> 1724
 <211> 0
 30 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1724
 000
 <210> 1725
 <211> 0
 35 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1725
 000
 40 <210> 1726
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1726
 45 000
 <210> 1727
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 50 <400> 1727
 000
 <210> 1728
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1728
 000
 <210> 1729
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1729
 000
 65 <210> 1730
 <211> 0

<212> ADN
<213> Hordeum vulgare
<400> 1730
000
5 <210> 1731
<211> 0
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare
<400> 1731
10 000
<210> 1732
<211> 0
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare
15 <400> 1732
000
<210> 1733
<211> 0
<212> ADN
20 <213> Hordeum vulgare
<400> 1733
000
<210> 1734
<211> 0
25 <212> ADN
<213> Hordeum vulgare
<400> 1734
000
<210> 1735
30 <211> 0
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare
<400> 1735
000
35 <210> 1736
<211> 0
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare
<400> 1736
40 000
<210> 1737
<211> 0
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare
45 <400> 1737
000
<210> 1738
<211> 0
<212> ADN
50 <213> Hordeum vulgare
<400> 1738
000
<210> 1739
<211> 0
55 <212> ADN
<213> Hordeum vulgare
<400> 1739
000
<210> 1740
60 <211> 0
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare
<400> 1740
000
65 <210> 1741
<211> 0

<212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1741
 000
 5 <210> 1742
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1742
 10 000
 <210> 1743
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1743
 15 000
 <210> 1744
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1744
 20 000
 <210> 1745
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1745
 000
 <210> 1746
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1746
 000
 35 <210> 1747
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1747
 40 000
 <210> 1748
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1748
 45 000
 <210> 1749
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1749
 50 000
 <210> 1750
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1750
 000
 <210> 1751
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> Hordeum vulgare
 <400> 1751
 000
 65 <210> 1752
 <211> 0

<212> ADN
<213> *Hordeum vulgare*
<400> 1752
000
5 <210> 1753
<211> 0
<212> ADN
<213> *Hordeum vulgare*
<400> 1753
10 000
<210> 1754
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
15 <400> 1754
000
<210> 1755
<211> 0
<212> ADN
20 <213> *Zea mays*
<400> 1755
000
<210> 1756
<211> 0
25 <212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1756
000
<210> 1757
30 <211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1757
000
35 <210> 1758
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1758
40 000
<210> 1759
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
45 <400> 1759
000
<210> 1760
<211> 0
<212> ADN
50 <213> *Zea mays*
<400> 1760
000
<210> 1761
<211> 0
55 <212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1761
000
<210> 1762
60 <211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 1762
000
65 <210> 1763
<211> 0

<212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1763
 000
 5 <210> 1764
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1764
 10 000
 <210> 1765
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 15 <400> 1765
 000
 <210> 1766
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Zea mays*
 <400> 1766
 000
 <210> 1767
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1767
 000
 <210> 1768
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1768
 000
 35 <210> 1769
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1769
 40 000
 <210> 1770
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 45 <400> 1770
 000
 <210> 1771
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Zea mays*
 <400> 1771
 000
 <210> 1772
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1772
 000
 <210> 1773
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1773
 000
 65 <210> 1774
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1774
 000
 5 <210> 1775
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1775
 10 000
 <210> 1776
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 15 <400> 1776
 000
 <210> 1777
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Zea mays*
 <400> 1777
 000
 <210> 1778
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1778
 000
 <210> 1779
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1779
 000
 35 <210> 1780
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1780
 40 000
 <210> 1781
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 45 <400> 1781
 000
 <210> 1782
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Zea mays*
 <400> 1782
 000
 <210> 1783
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1783
 000
 <210> 1784
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1784
 000
 65 <210> 1785
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1785
 000
 5 <210> 1786
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1786
 10 000
 <210> 1787
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 15 <400> 1787
 000
 <210> 1788
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Zea mays*
 <400> 1788
 000
 <210> 1789
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1789
 000
 <210> 1790
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1790
 000
 35 <210> 1791
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1791
 40 000
 <210> 1792
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 45 <400> 1792
 000
 <210> 1793
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Zea mays*
 <400> 1793
 000
 <210> 1794
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1794
 000
 <210> 1795
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1795
 000
 65 <210> 1796
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1796
 000
 5 <210> 1797
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1797
 10 000
 <210> 1798
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 15 <400> 1798
 000
 <210> 1799
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Zea mays*
 <400> 1799
 000
 <210> 1800
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1800
 000
 <210> 1801
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1801
 000
 35 <210> 1802
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1802
 40 000
 <210> 1803
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 45 <400> 1803
 000
 <210> 1804
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Zea mays*
 <400> 1804
 000
 <210> 1805
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1805
 000
 <210> 1806
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1806
 000
 65 <210> 1807
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1807
 000
 5 <210> 1808
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1808
 10 000
 <210> 1809
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 15 <400> 1809
 000
 <210> 1810
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Zea mays*
 <400> 1810
 000
 <210> 1811
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1811
 000
 <210> 1812
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1812
 000
 35 <210> 1813
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1813
 40 000
 <210> 1814
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 45 <400> 1814
 000
 <210> 1815
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Zea mays*
 <400> 1815
 000
 <210> 1816
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1816
 000
 <210> 1817
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1817
 000
 65 <210> 1818
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1818
 000
 5 <210> 1819
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1819
 10 000
 <210> 1820
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 15 <400> 1820
 000
 <210> 1821
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Zea mays*
 <400> 1821
 000
 <210> 1822
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1822
 000
 <210> 1823
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1823
 000
 35 <210> 1824
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1824
 40 000
 <210> 1825
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 45 <400> 1825
 000
 <210> 1826
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Zea mays*
 <400> 1826
 000
 <210> 1827
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1827
 000
 <210> 1828
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1828
 000
 65 <210> 1829
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1829
 000
 5 <210> 1830
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1830
 10 000
 <210> 1831
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 15 <400> 1831
 000
 <210> 1832
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Zea mays*
 <400> 1832
 000
 <210> 1833
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 1833
 000
 <210> 1834
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1834
 000
 35 <210> 1835
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1835
 40 000
 <210> 1836
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 45 <400> 1836
 000
 <210> 1837
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1837
 000
 <210> 1838
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1838
 000
 <210> 1839
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1839
 000
 65 <210> 1840
 <211> 0

<212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1840
 000
 5 <210> 1841
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1841
 10 000
 <210> 1842
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 15 <400> 1842
 000
 <210> 1843
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1843
 000
 <210> 1844
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1844
 000
 <210> 1845
 30 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1845
 000
 35 <210> 1846
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1846
 40 000
 <210> 1847
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 45 <400> 1847
 000
 <210> 1848
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1848
 000
 <210> 1849
 <211> 0
 55 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1849
 000
 <210> 1850
 60 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1850
 000
 65 <210> 1851
 <211> 0

<212> ADN
<213> *Triticum aestivum*
<400> 1851
000
5 <210> 1852
<211> 0
<212> ADN
<213> *Triticum aestivum*
<400> 1852
10 000
<210> 1853
<211> 0
<212> ADN
<213> *Triticum aestivum*
15 <400> 1853
000
<210> 1854
<211> 0
<212> ADN
20 <213> *Triticum aestivum*
<400> 1854
000
<210> 1855
<211> 0
25 <212> ADN
<213> *Triticum aestivum*
<400> 1855
000
<210> 1856
30 <211> 0
<212> ADN
<213> *Triticum aestivum*
<400> 1856
000
35 <210> 1857
<211> 0
<212> ADN
<213> *Triticum aestivum*
<400> 1857
40 000
<210> 1858
<211> 0
<212> ADN
<213> *Triticum aestivum*
45 <400> 1858
000
<210> 1859
<211> 0
<212> ADN
50 <213> *Triticum aestivum*
<400> 1859
000
<210> 1860
<211> 0
55 <212> ADN
<213> *Triticum aestivum*
<400> 1860
000
<210> 1861
60 <211> 0
<212> ADN
<213> *Triticum aestivum*
<400> 1861
000
65 <210> 1862
<211> 0

<212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1862
 000
 5 <210> 1863
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1863
 10 000
 <210> 1864
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 15 <400> 1864
 000
 <210> 1865
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1865
 000
 <210> 1866
 <211> 0
 25 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1866
 000
 30 <210> 1867
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1867
 35 000
 <210> 1868
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 40 <400> 1868
 000
 <210> 1869
 <211> 0
 <212> ADN
 45 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1869
 000
 <210> 1870
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1870
 000
 <210> 1871
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1871
 000
 55 <210> 1872
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1872
 000
 60 <210> 1873
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1873
 65 000
 <210> 1873

<211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1873
 5 000
 <210> 1874
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 10 <400> 1874
 000
 <210> 1875
 <211> 0
 <212> ADN
 15 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1875
 000
 <210> 1876
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1876
 000
 <210> 1877
 25 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1877
 000
 30 <210> 1878
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1878
 35 000
 <210> 1879
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 40 <400> 1879
 000
 <210> 1880
 <211> 0
 <212> ADN
 45 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1880
 000
 <210> 1881
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1881
 000
 55 <210> 1882
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1882
 60 000
 <210> 1883
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 65 <400> 1883
 000

<210> 1884
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 5 <400> 1884
 000
 <210> 1885
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1885
 000
 <210> 1886
 <211> 0
 <212> ADN
 15 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1886
 000
 <210> 1887
 <211> 0
 <212> ADN
 20 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1887
 000
 <210> 1888
 <211> 0
 <212> ADN
 25 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1888
 000
 <210> 1889
 <211> 0
 <212> ADN
 30 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1889
 000
 <210> 1890
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1890
 000
 <210> 1891
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1891
 000
 <210> 1892
 <211> 0
 <212> ADN
 45 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1892
 000
 <210> 1893
 <211> 0
 <212> ADN
 50 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1893
 000
 <210> 1894
 <211> 0
 <212> ADN
 55 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1894
 000
 60 <210> 1894
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 65 <400> 1894
 000

<210> 1895
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 5 <400> 1895
 000
 <210> 1896
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1896
 000
 <210> 1897
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1897
 000
 <210> 1898
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 20 <400> 1898
 000
 <210> 1899
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 25 <400> 1899
 000
 <210> 1900
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 30 <400> 1900
 000
 <210> 1901
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 35 <400> 1901
 000
 <210> 1902
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 40 <400> 1902
 000
 <210> 1903
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 45 <400> 1903
 000
 <210> 1904
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 50 <400> 1904
 000
 <210> 1905
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 55 <400> 1905
 000
 60
 <210> 1905
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 65 <400> 1905
 000

<210> 1906
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 5 <400> 1906
 000
 <210> 1907
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1907
 000
 <210> 1908
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1908
 000
 <210> 1909
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1909
 000
 25 <210> 1910
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1910
 30 000
 <210> 1911
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 35 <400> 1911
 000
 <210> 1912
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1912
 000
 <210> 1913
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1913
 000
 <210> 1914
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1914
 000
 55 <210> 1915
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1915
 60 000
 <210> 1916
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 65 <400> 1916
 000

<210> 1917
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 5 <400> 1917
 000
 <210> 1918
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1918
 000
 <210> 1919
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1919
 000
 <210> 1920
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1920
 000
 25 <210> 1921
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1921
 30 000
 <210> 1922
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 35 <400> 1922
 000
 <210> 1923
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 40 <400> 1923
 000
 <210> 1924
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Triticum aestivum*
 <400> 1924
 000
 50 <210> 1925
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1925
 000
 55 <210> 1926
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1926
 60 000
 <210> 1927
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 65 <400> 1927
 000

<210> 1928
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 5 <400> 1928
 000
 <210> 1929
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1929
 000
 <210> 1930
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1930
 000
 <210> 1931
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1931
 000
 25 <210> 1932
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1932
 30 000
 <210> 1933
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 35 <400> 1933
 000
 <210> 1934
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1934
 000
 <210> 1935
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1935
 000
 <210> 1936
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1936
 000
 55 <210> 1937
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1937
 60 000
 <210> 1938
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 65 <400> 1938
 000

<210> 1939
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
5 <400> 1939
000
<210> 1940
<211> 0
<212> ADN
10 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1940
000
<210> 1941
<211> 0
15 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1941
000
<210> 1942
20 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1942
000
25 <210> 1943
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1943
30 000
<210> 1944
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
35 <400> 1944
000
<210> 1945
<211> 0
<212> ADN
40 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1945
000
<210> 1946
<211> 0
45 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1946
000
<210> 1947
50 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1947
000
55 <210> 1948
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1948
60 000
<210> 1949
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
65 <400> 1949
000

<210> 1950
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 5 <400> 1950
 000
 <210> 1951
 <211> 0
 <212> ADN
 10 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1951
 000
 <210> 1952
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1952
 000
 <210> 1953
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1953
 000
 25 <210> 1954
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1954
 30 000
 <210> 1955
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 35 <400> 1955
 000
 <210> 1956
 <211> 0
 <212> ADN
 40 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1956
 000
 <210> 1957
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1957
 000
 <210> 1958
 <211> 0
 50 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1958
 000
 55 <210> 1959
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1959
 60 000
 <210> 1960
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 65 <400> 1960
 000

<210> 1961
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1961
000
<210> 1962
<211> 0
<212> ADN
10 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1962
000
<210> 1963
<211> 0
15 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1963
000
<210> 1964
20 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1964
000
25 <210> 1965
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1965
30 000
<210> 1966
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
35 <400> 1966
000
<210> 1967
<211> 0
<212> ADN
40 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1967
000
<210> 1968
<211> 0
45 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1968
000
<210> 1969
50 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1969
000
55 <210> 1970
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1970
60 000
<210> 1971
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
65 <400> 1971
000

<210> 1972
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1972
000
<210> 1973
<211> 0
<212> ADN
10 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1973
000
<210> 1974
<211> 0
15 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1974
000
<210> 1975
20 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1975
000
25 <210> 1976
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1976
30 000
<210> 1977
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
35 <400> 1977
000
<210> 1978
<211> 0
<212> ADN
40 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1978
000
<210> 1979
<211> 0
45 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1979
000
<210> 1980
50 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1980
000
55 <210> 1981
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1981
60 000
<210> 1982
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
65 <400> 1982
000

<210> 1983
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 5 <400> 1983
 000

 <210> 1984
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1984
 000

 <210> 1985
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1985
 000

 <210> 1986
 <211> 0
 20 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1986
 25 000

 <210> 1987
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 30 <400> 1987
 000

 <210> 1988
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1988
 000

 <210> 1989
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1989
 000

 <210> 1990
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1990
 000

 <210> 1991
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 50 <400> 1991
 000

 <210> 1992
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 55 <400> 1992
 000

 <210> 1993
 <211> 0
 <212> ADN
 60 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 1993
 65 <400> 1993

000
<210> 1994
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1994
000
<210> 1995
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1995
000
<210> 1996
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1996
000
20 <210> 1997
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1997
25 000
<210> 1998
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
30 <400> 1998
000
<210> 1999
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 1999
000
<210> 2000
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2000
000
<210> 2001
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2001
000
50 <210> 2002
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2002
55 000
<210> 2003
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
60 <400> 2003
000
<210> 2004
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2004

000
<210> 2005
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2005
000
<210> 2006
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2006
000
<210> 2007
<211> 0
15 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2007
000
20 <210> 2008
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2008
25 000
<210> 2009
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
30 <400> 2009
000
<210> 2010
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2010
000
<210> 2011
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2011
000
<210> 2012
<211> 0
45 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2012
000
50 <210> 2013
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2013
55 000
<210> 2014
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
60 <400> 2014
000
<210> 2015
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2015

000
 <210> 2016
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2016
 000
 <210> 2017
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2017
 000
 <210> 2018
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2018
 000
 20 <210> 2019
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2019
 25 000
 <210> 2020
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 30 <400> 2020
 000
 <210> 2021
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2021
 000
 <210> 2022
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2022
 000
 <210> 2023
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2023
 000
 50 <210> 2024
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2024
 55 000
 <210> 2025
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 60 <400> 2025
 000
 <210> 2026
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2026

000
 <210> 2027
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2027
 000
 <210> 2028
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2028
 000
 <210> 2029
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2029
 000
 20 <210> 2030
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2030
 25 000
 <210> 2031
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 30 <400> 2031
 000
 <210> 2032
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2032
 000
 <210> 2033
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2033
 000
 <210> 2034
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2034
 000
 50 <210> 2035
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2035
 55 000
 <210> 2036
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 60 <400> 2036
 000
 <210> 2037
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2037

000
<210> 2038
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2038
000
<210> 2039
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2039
000
<210> 2040
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2040
000
20 <210> 2041
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2041
25 000
<210> 2042
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
30 <400> 2042
000
<210> 2043
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2043
000
<210> 2044
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2044
000
<210> 2045
45 <211> 625
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2045
50

55

60

65

ES 2 380 017 T3

5 ctcattcctc ttcctcctat atcttttctc tccgccccat tttcactatc acaaatcaaa 60
 gcttccaaaa tttagaaatt gtatacaaaa atggaacttc tgtcctctaa actctgtgag 120
 ctttgcaatg atcaagctgc tctgttttgt ccatctgatt cagcttttct ctgttttcac 180
 10 tgtgatgcta aagttcatca ggctaatttc cttgtttgctc gccaccttcg tcttactctt 240
 tgctctcact gtaactccct tacgaaaaaa cgtttttccc cttgttcacc gccgcctcct 300
 gctctttgtc cttcctgttc ccggaattcg tctggtgatt ccgatctccg ttctgtttca 360
 15 acgacgtcgt cgtcgtcttc gtcgacttgt gtttccagca cgcagtccag tgctattact 420
 caaaaaatta acataatctc ttcaaatcga aagcaatttc cggacagcga ctctaacggt 480
 gaagtcaatt ctggcagatg taatttagta cgatccagaa gtgtgaaatt gcgagatcca 540
 20 agagcggcga cttgtgtgtt catgcattgg tgcacaaagc ttcaaatgaa ccgcgaggaa 600
 cgtgtggtgc aaacggcttg tagtg 625

25 <210> 2046
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 30 <400> 2046
 000
 <210> 2047
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2047
 000
 <210> 2048
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2048
 000
 <210> 2049
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2049
 000
 50 <210> 2050
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2050
 55 000
 <210> 2051
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 60 <400> 2051
 000
 <210> 2052
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2052

000
<210> 2053
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2053
000
<210> 2054
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2054
000
<210> 2055
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2055
000
20 <210> 2056
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2056
25 000
<210> 2057
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
30 <400> 2057
000
<210> 2058
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2058
000
<210> 2059
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2059
000
<210> 2060
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2060
000
50 <210> 2061
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2061
55 000
<210> 2062
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
60 <400> 2062
000
<210> 2063
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2063

000
<210> 2064
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2064
000
<210> 2065
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2065
000
<210> 2066
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2066
000
20 <210> 2067
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2067
25 000
<210> 2068
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
30 <400> 2068
000
<210> 2069
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2069
000
<210> 2070
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2070
000
<210> 2071
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2071
000
50 <210> 2072
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2072
55 000
<210> 2073
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
60 <400> 2073
000
<210> 2074
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2074

000
<210> 2075
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2075
000
<210> 2076
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2076
000
<210> 2077
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2077
000
20 <210> 2078
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2078
25 000
<210> 2079
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
30 <400> 2079
000
<210> 2080
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2080
000
<210> 2081
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2081
000
<210> 2082
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2082
000
50 <210> 2083
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2083
55 000
<210> 2084
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
60 <400> 2084
000
<210> 2085
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2085

000
 <210> 2086
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2086
 000
 <210> 2087
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2087
 000
 <210> 2088
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2088
 000
 20 <210> 2089
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2089
 25 000
 <210> 2090
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 30 <400> 2090
 000
 <210> 2091
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2091
 000
 <210> 2092
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2092
 000
 <210> 2093
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2093
 000
 50 <210> 2094
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2094
 55 000
 <210> 2095
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Lycopersicon esculentum*
 60 <400> 2095
 000
 <210> 2096
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Lycopersicon esculentum*
 <400> 2096

000
<210> 2097
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2097
000
<210> 2098
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2098
000
<210> 2099
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2099
000
20 <210> 2100
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
<400> 2100
25 000
<210> 2101
<211> 0
<212> ADN
<213> *Lycopersicon esculentum*
30 <400> 2101
000
<210> 2102
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2102
000
<210> 2103
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2103
000
<210> 2104
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2104
000
50 <210> 2105
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2105
55 000
<210> 2106
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
60 <400> 2106
000
<210> 2107
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2107

000
<210> 2108
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2108
000
<210> 2109
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2109
000
<210> 2110
15 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2110
000
20 <210> 2111
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2111
25 000
<210> 2112
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
30 <400> 2112
000
<210> 2113
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2113
000
<210> 2114
<211> 0
40 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2114
000
<210> 2115
45 <211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2115
000
50 <210> 2116
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2116
55 000
<210> 2117
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
60 <400> 2117
000
<210> 2118
<211> 0
<212> ADN
65 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2118

000
<210> 2119
<211> 0
<212> ADN
5 <213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2119
000
<210> 2120
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2120
000
<210> 2121
<211> 0
15 <212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2121
000
20 <210> 2122
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<400> 2122
25 000
<210> 2123
<211> 0
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
30 <400> 2123
000
<210> 2124
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Oryza sativa*
<400> 2124
000
<210> 2125
<211> 0
40 <212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 2125
000
<210> 2126
<211> 0
45 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 2126
000
50 <210> 2127
<211> 0
<212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 2127
55 000
<210> 2128
<211> 0
<212> ADN
<213> *Oryza sativa*
60 <400> 2128
000
<210> 2129
<211> 0
<212> PRT
65 <213> *Oryza sativa*
<400> 2129

000
 <210> 2130
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2130
 000
 <210> 2131
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2131
 000
 <210> 2132
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2132
 000
 20 <210> 2133
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2133
 25 000
 <210> 2134
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 30 <400> 2134
 000
 <210> 2135
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2135
 000
 <210> 2136
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2136
 000
 <210> 2137
 <211> 0
 45 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2137
 000
 50 <210> 2138
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2138
 55 000
 <210> 2139
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 60 <400> 2139
 000
 <210> 2140
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2140

000
 <210> 2141
 <211> 0
 <212> PRT
 5 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2141
 000
 <210> 2142
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2142
 000
 <210> 2143
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2143
 000
 20 <210> 2144
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2144
 25 000
 <210> 2145
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 30 <400> 2145
 000
 <210> 2146
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Zea mays*
 <400> 2146
 000
 <210> 2147
 <211> 0
 40 <212> PRT
 <213> *Zea mays*
 <400> 2147
 000
 <210> 2148
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 2148
 000
 50 <210> 2149
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Zea mays*
 <400> 2149
 55 000
 <210> 2150
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 60 <400> 2150
 000
 <210> 2151
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Zea mays*
 <400> 2151

000
 <210> 2152
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Zea mays*
 <400> 2152
 000
 <210> 2153
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Zea mays*
 <400> 2153
 000
 <210> 2154
 <211> 0
 15 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 2154
 000
 20 <210> 2155
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Zea mays*
 <400> 2155
 25 000
 <210> 2156
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 30 <400> 2156
 000
 <210> 2157
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Zea mays*
 <400> 2157
 000
 <210> 2158
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2158
 000
 <210> 2159
 <211> 0
 45 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2159
 000
 50 <210> 2160
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2160
 55 000
 <210> 2161
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 2161
 000
 <210> 2162
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Glycine max*
 <400> 2162

000
 <210> 2163
 <211> 0
 <212> PRT
 5 <213> *Glycine max*
 <400> 2163
 000
 <210> 2164
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2164
 000
 <210> 2165
 15 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2165
 000
 20 <210> 2166
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2166
 25 000
 <210> 2167
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 2167
 000
 <210> 2168
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 2168
 000
 <210> 2169
 <211> 0
 40 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2169
 000
 <210> 2170
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2170
 000
 50 <210> 2171
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2171
 55 000
 <210> 2172
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 2172
 000
 <210> 2173
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Glycine max*
 <400> 2173

000
 <210> 2174
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Glycine max*
 <400> 2174
 000
 <210> 2175
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2175
 000
 <210> 2176
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2176
 000
 20 <210> 2177
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2177
 25 000
 <210> 2178
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 2178
 000
 <210> 2179
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 2179
 000
 <210> 2180
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2180
 000
 <210> 2181
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2181
 000
 50 <210> 2182
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2182
 55 000
 <210> 2183
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 2183
 000
 <210> 2184
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Glycine max*
 <400> 2184

000
 <210> 2185
 <211> 0
 <212> PRT
 5 <213> *Glycine max*
 <400> 2185
 000
 <210> 2186
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2186
 000
 <210> 2187
 <211> 0
 15 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2187
 000
 20 <210> 2188
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2188
 25 000
 <210> 2189
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 30 <400> 2189
 000
 <210> 2190
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 2190
 000
 <210> 2191
 <211> 0
 40 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2191
 000
 <210> 2192
 <211> 0
 45 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2192
 000
 50 <210> 2193
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2193
 55 000
 <210> 2194
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 60 <400> 2194
 000
 <210> 2195
 <211> 0
 <212> PRT
 65 <213> *Zea mays*
 <400> 2195

000
 <210> 2196
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Zea mays*
 <400> 2196
 000
 <210> 2197
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Zea mays*
 <400> 2197
 000
 <210> 2198
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Zea mays*
 <400> 2198
 000
 20 <210> 2199
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Zea mays*
 <400> 2199
 25 000
 <210> 2200
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 30 <400> 2200
 000
 <210> 2201
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2201
 000
 <210> 2202
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2202
 000
 <210> 2203
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2203
 000
 50 <210> 2204
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2204
 55 000
 <210> 2205
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 60 <400> 2205
 000
 <210> 2206
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Glycine max*
 <400> 2206

000
<210> 2207
<211> 0
<212> PRT
5 <213> *Glycine max*
<400> 2207
000
<210> 2208
<211> 0
10 <212> ADN
<213> *Oryza sativa*
<400> 2208
000
<210> 2209
<211> 0
15 <212> PRT
<213> *Oryza sativa*
<400> 2209
000
20 <210> 2210
<211> 0
<212> ADN
<213> *Zea mays*
<400> 2210
25 000
<210> 2211
<211> 0
<212> PRT
<213> *Zea mays*
30 <400> 2211
000
<210> 2212
<211> 0
<212> ADN
35 <213> *Zea mays*
<400> 2212
000
<210> 2213
<211> 0
40 <212> PRT
<213> *Zea mays*
<400> 2213
000
<210> 2214
<211> 0
45 <212> ADN
<213> *Glycine max*
<400> 2214
000
50 <210> 2215
<211> 0
<212> PRT
<213> *Glycine max*
<400> 2215
55 000
<210> 2216
<211> 0
<212> ADN
<213> *Glycine max*
60 <400> 2216
000
<210> 2217
<211> 0
<212> PRT
65 <213> *Glycine max*
<400> 2217

000
 <210> 2218
 <211> 0
 <212> ADN
 5 <213> *Glycine max*
 <400> 2218
 000
 <210> 2219
 <211> 0
 10 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2219
 000
 <210> 2220
 15 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2220
 000
 20 <210> 2221
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2221
 25 000
 <210> 2222
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 30 <400> 2222
 000
 <210> 2223
 <211> 0
 <212> PRT
 35 <213> *Glycine max*
 <400> 2223
 000
 <210> 2224
 <211> 0
 40 <212> ADN
 <213> *Glycine max*
 <400> 2224
 000
 <210> 2225
 45 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Glycine max*
 <400> 2225
 000
 50 <210> 2226
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2226
 55 000
 <210> 2227
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 60 <400> 2227
 000
 <210> 2228
 <211> 0
 <212> ADN
 65 <213> *Brassica rapa*
 <400> 2228

000
 <210> 2229
 <211> 0
 <212> PRT
 5 <213> *Brassica rapa*
 <400> 2229
 000
 <210> 2230
 <211> 0
 10 <212> ADN
 <213> *Brassica oleracea*
 <400> 2230
 000
 <210> 2231
 15 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Brassica oleracea*
 <400> 2231
 000
 20 <210> 2232
 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *zinnia elegans*
 <400> 2232
 25 000
 <210> 2233
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *zinnia elegans*
 30 <400> 2233
 000
 <210> 2234
 <211> 0
 <212> ADN
 35 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2234
 000
 <210> 2235
 <211> 0
 40 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2235
 000
 <210> 2236
 45 <211> 0
 <212> ADN
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2236
 000
 50 <210> 2237
 <211> 0
 <212> PRT
 <213> *Oryza sativa*
 <400> 2237
 55 000
 <210> 2238
 <211> 929
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 60 <400> 2238

65

5

cttgaaaaag aatctacctg aaaagaaaaa aaagagagag agatataaat agctttacca 60
 10 agacagatat actatctttt attaatccaa aaagactgag aactctagta actacgtact 120
 acttaaacct tatccagttt cttgaaacag agtactctga tcaatgaact cattttcagc 180
 15 tttttctgaa atgtttggct ccgattacga gcctcaaggc ggagattatt gtccgacgtt 240
 ggccacgagt tgtccgaaga aaccggcggg ccgtaagaag tttcgtgaga ctcgtcaccc 300
 aatttacaga ggagttcgtc aaagaaactc cggtaaagtgg gtttctgaag tgagagagcc 360
 20 aaacaagaaa accaggattt ggctcgggac tttccaaacc gctgagatgg cagctcgtgc 420
 tcacgacgtc gctgcattag ccctccgtgg ccgatcagca tgtctcaact tcgctgactc 480
 25 ggcttggcgg ctacgaatcc cggagtcaac atgcgccaag gatatccaaa aagcggctgc 540
 tgaagcggcg ttggcttttc aagatgagac gtgtgatagc acgaccacga atcatggcct 600
 ggacatggag gagacgatgg tggaagctat ttatacaccg gaacagagcg aagggtgcgtt 660
 30 ttatatggat gaggagacaa tgtttgggat gccgactttg ttggataata tggctgaagg 720
 catgctttta ccgccgccgt ctgttcaatg gaatcataat tatgacggcg aaggagatgg 780
 35 tgacgtgtcg ctttggagtt actaatattc gatagtcggt tccatttttg tactatagtt 840
 tgaaaatatt ctagttcctt tttttagaat ggttccttca ttttatttta ttttattggt 900
 gtagaaacga gtggaaaata attcaatac 929

40

<210> 2239
 <211> 213
 <212> PRT
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 45 <400> 2239

50

55

60

65

5

10 Met Asn Ser Phe Ser Ala Phe Ser Glu Met Phe Gly Ser Asp Tyr Glu
 1 5 10 15

Pro Gln Gly Gly Asp Tyr Cys Pro Thr Leu Ala Thr Ser Cys Pro Lys
 20 25

Lys Pro Ala Gly Arg Lys Lys Phe Arg Glu Thr Arg His Pro Ile Tyr
 30 35

Arg Gly Val Arg Gln Arg Asn Ser Gly Lys Trp Val Ser Glu Val Arg
 40 45

Glu Pro Asn Lys Lys Thr Arg Ile Trp Leu Gly Thr Phe Gln Thr Ala
 50 55

Glu Met Ala Ala Arg Ala His Asp Val Ala Ala Leu Ala Leu Arg Gly
 60 65

Arg Ser Ala Cys Leu Asn Phe Ala Asp Ser Ala Trp Arg Leu Arg Ile
 70 75

Pro Glu Ser Thr Cys Ala Lys Asp Ile Gln Lys Ala Ala Ala Glu Ala
 80 85

Ala Leu Ala Phe Gln Asp Glu Thr Cys Asp Thr Thr Thr Thr Asn His
 90 95

130 135 140

Gly Leu Asp Met Glu Glu Thr Met Val Glu Ala Ile Tyr Thr Pro Glu
 100 105 110 115

Gln Ser Glu Gly Ala Phe Tyr Met Asp Glu Glu Thr Met Phe Gly Met
 120 125 130 135

Pro Thr Leu Leu Asp Asn Met Ala Glu Gly Met Leu Leu Pro Pro Pro
 140 145 150 155

Ser Val Gln Trp Asn His Asn Tyr Asp Gly Glu Gly Asp Gly Asp Val
 160 165 170 175

Ser Leu Trp Ser Tyr
 180 185 190 195 200 205 210

60 <210> 2240
 <211> 803
 <212> ADN
 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 2240

65

5

10 ctgatcaatg aactcatttt ctgccttttc tgaatgttt ggctccgatt acgagtctcc 60
 ggtttcctca ggcggtgatt acagtccgaa gcttgccacg agctgccccca agaaaccagc 120
 gggaaaggaag aagtttcgtg agactcgtca cccaatttac agaggagttc gtcaaagaaa 180
 15 ctccggttaag tgggtgtgtg agttgagaga gccaaacaag aaaacgagga tttggctcgg 240
 gactttccaa accgctgaga tggcagctcg tgctcacgac gtcgccgcca tagctctccg 300
 20 tggcagatct gcctgtctca atttcgctga ctcggttg cggctacgaa tcccggaatc 360
 aacctgtgcc aaggaaatcc aaaaggcggc ggctgaagcc gcgttgaatt ttcaagatga 420
 gatgtgtcat atgacgacgg atgctcatgg tcttgacatg gaggagacct tgggtggaggc 480
 25 tatttatacg ccggaacaga gccaaagatgc gttttatatg gatgaagagg cgatgttggg 540
 gatgtctagt ttgttgata acatggccga agggatgctt ttaccgctgc cgtcggttca 600
 atggaactat aattttgatg tcgagggaga tgatgacgtg tccttatgga gctattaata 660
 30 ttcgattttt atttccattt ttggtattat agctttttat acatttgatc cttttttaga 720
 atggatcttc ttctttttt ggttgtgaga aacgaatgta aatggtaaaa gttgtgtgca 780
 35 aatgcaaatg tttttgagtg cag 803

<210> 2241
 <211> 207
 <212> PRT
 40 <213> *Arabidopsis thaliana*
 <400> 2241

45 Met Phe Gly Ser Asp Tyr Glu Ser Pro Val Ser Ser Gly Gly Asp Tyr
 1 5 10 15
 Ser Pro Lys Leu Ala Thr Ser Cys Pro Lys Lys Pro Ala Gly Arg Lys
 20 25 30
 50 Lys Phe Arg Glu Thr Arg His Pro Ile Tyr Arg Gly Val Arg Gln Arg
 35 40 45

55

60

65

5

10 Asn Ser Gly Lys Trp Val Cys Glu Leu Arg Glu Pro Asn Lys Lys Thr
50 55 60

15 Arg Ile Trp Leu Gly Thr Phe Gln Thr Ala Glu Met Ala Ala Arg Ala
65 70 75 80

20 His Asp Val Ala Ala Ile Ala Leu Arg Gly Arg Ser Ala Cys Leu Asn
85 90 95

25 Phe Ala Asp Ser Ala Trp Arg Leu Arg Ile Pro Glu Ser Thr Cys Ala
100 105 110

30 Lys Glu Ile Gln Lys Ala Ala Ala Glu Ala Ala Leu Asn Phe Gln Asp
115 120 125

35 Glu Met Cys His Met Thr Thr Asp Ala His Gly Leu Asp Met Glu Glu
130 135 140

40 Thr Leu Val Glu Ala Ile Tyr Thr Pro Glu Gln Ser Gln Asp Ala Phe
145 150 155 160

45 Tyr Met Asp Glu Glu Ala Met Leu Gly Met Ser Ser Leu Leu Asp Asn
165 170 175

50 Met Ala Glu Gly Met Leu Leu Pro Ser Pro Ser Val Gln Trp Asn Tyr
180 185 190

55 Asn Phe Asp Val Glu Gly Asp Asp Asp Val Ser Leu Trp Ser Tyr
195 200 205

45 <210> 2242
<211> 908
<212> ADN
<213> *Arabidopsis thaliana*
<220>
<221> misc_feature
<222> (851)..(851)
50 <223> n e s a, c, g, o t
<400> 2242

55

60

65

5

10 cctgaactag aacagaaaga gagagaaact attatttcag caaacccatac caacaaaaaa 60
gacagagatc ttttagttac cttatccagt ttcttgaaac agagtactct tctgatcaat 120
gaactcattt tctgcttttt ctgaaatggt tggctccgat tacgagtctt cggtttcctc 180
15 aggcggtgat tatattccga cgcttgcgag cagctgcccc aagaaaccgg cgggtcgtaa 240
gaagtttcgt gagactcgtc acccaatata cagaggagtt cgtcggagaa actccggtaa 300
gtgggtttgt gaggttagag aaccaaaca gaaaacaagg atttggctcg gaacatttca 360
20 aaccgctgag atggcagctc gagctcacga cgttgccgct ttagcccttc gtggccgatc 420
agcctgtctc aatttcgctg actcggcttg gagactccga atcccggaat caacttgccg 480
25 taaggacatc caaaaggcgg cggctgaagc tgcgttggcg tttcaggatg agatgtgtga 540
tgcgacgacg gatcatggct tcgacatgga ggagacggtg gtggaggcta tttacacggc 600
ggaacagagc gaaaatgcgt tttatatgca cgatgaggcg atgtttgaga tgccgagttt 660
30 gttggcta atggcagaag ggatgctttt gccgcttccg tccgtacagt ggaatcataa 720
tcataaagtc gacggcgatg atgacgacgt atcgttatgg agttätaaā actcagatta 780
35 ttatttccat ttttagtacg atacttttta ttttattatt atttttagat ctttttttag 840
aatggaatct ncattatggt tgtaaaactg agaaacgagt gtaaattaaa ttgattcagt 900
ttcagtat 908

40 <210> 2243
<211> 216
<212> PRT
<213> *Arabidopsis thaliana*
45 <400> 2243

50

55

60

65

5

10 Met Asn Ser Phe Ser Ala Phe Ser Glu Met Phe Gly Ser Asp Tyr Glu
 1 5 10 15

15 Ser Ser Val Ser Ser Gly Gly Asp Tyr Ile Pro Thr Leu Ala Ser Ser
 20 25

20 Cys Pro Lys Lys Pro Ala Gly Arg Lys Lys Phe Arg Glu Thr Arg His
 35 40 45

25 Pro Ile Tyr Arg Gly Val Arg Arg Arg Asn Ser Gly Lys Trp Val Cys
 50 55 60

30 Glu Val Arg Glu Pro Asn Lys Lys Thr Arg Ile Trp Leu Gly Thr Phe
 65 70 75 80

35 Gln Thr Ala Glu Met Ala Ala Arg Ala His Asp Val Ala Ala Leu Ala
 85 90 95

40 Leu Arg Gly Arg Ser Ala Cys Leu Asn Phe Ala Asp Ser Ala Trp Arg
 100 105 110

45 Leu Arg Ile Pro Glu Ser Thr Cys Ala Lys Asp Ile Gln Lys Ala Ala
 115 120 125

50 Ala Glu Ala Ala Leu Ala Phe Gln Asp Glu Met Cys Asp Ala Thr Thr
 130 135 140

55 Asp His Gly Phe Asp Met Glu Glu Thr Leu Val Glu Ala Ile Tyr Thr
 145 150 155 160

60 Ala Glu Gln Ser Glu Asn Ala Phe Tyr Met His Asp Glu Ala Met Phe
 165 170 175

65 Glu Met Pro Ser Leu Leu Ala Asn Met Ala Glu Gly Met Leu Leu Pro
 180 185 190

70 Leu Pro Ser Val Gln Trp Asn His Asn His Glu Val Asp Gly Asp Asp
 195 200 205

75 Asp Asp Val Ser Leu Trp Ser Tyr
 210 215

55 <400> 2244

60

65

ES 2 380 017 T3

5 cacccgatat accgggggagt tcgtctgaga aagtcaggta agtgggtgtg tgaagtgagg 60
gaaccaaaca agaaatctag aatttggtt ggaactttca aaacagctga gatggcagct 120

10 cgtgctcag acgtcgtgc cctagccctc cgtggaagag ggcctgcct caattatgcg 180
gactcggctt ggcggctccg catcccggag acaacctgcc acaaggatat ccagaaggct 240
gctgctgaag ccgcattggc ttttgaggct gagaaaagtg atgtgacgat gcaaaatggc 300

15 cagaacatgg aggagacgac ggcggtggct tctcaggctg aagtgaatga cacgacgaca 360
gaacatggca tgaacatgga ggaggcaacg gcagtggctt ctcaggctga ggtgaatgac 420
acgacgacgg atcatggcgt agacatggag gagacaatgg tggaggctgt ttttactggg 480

20 gaacaaagtg aagggtttaa catggcgaag gagtcgacgg tggaggctgc tgttgttacg 540
gaggaaccga gcaaaggatc ttacatggac gaggagtgga tgctcgagat gccgaccttg 600

25 ttggctgata tggcagaagg gatgctcctg cc 632

30 <210> 2245
<211> 208
<212> PRT
<213> *Brassica napus*
<400> 2245

ES 2 380 017 T3

His Pro Ile Tyr Arg Gly Val Arg Leu Arg Lys Ser Gly Lys Trp Val
 1 5 10 15
 Cys Glu Val Arg Glu Pro Asn Lys Lys Ser Arg Ile Trp Leu Gly Thr
 20 25 30
 Phe Lys Thr Ala Glu Met Ala Ala Arg Ala His Asp Val Ala Ala Leu
 35 40 45
 Ala Leu Arg Gly Arg Gly Ala Cys Leu Asn Tyr Ala Asp Ser Ala Trp
 50 55 60
 Arg Leu Arg Ile Pro Glu Thr Thr Cys His Lys Asp Ile Gln Lys Ala
 65 70 75 80
 Ala Ala Glu Ala Ala Leu Ala Phe Glu Ala Glu Lys Ser Asp Val Thr
 85 90 95
 Met Gln Asn Gly Gln Asn Met Glu Glu Thr Thr Ala Val Ala Ser Gln
 100 105 110
 Ala Glu Val Asn Asp Thr Thr Thr Glu His Gly Met Asn Met Glu Glu
 115 120 125
 Ala Thr Ala Val Ala Ser Gln Ala Glu Val Asn Asp Thr Thr Thr Asp
 130 135 140
 His Gly Val Asp Met Glu Glu Thr Met Val Glu Ala Val Phe Thr Gly
 145 150 155 160
 Glu Gln Ser Glu Gly Phe Asn Met Ala Lys Glu Ser Thr Val Glu Ala
 165 170 175
 Ala Val Val Thr Glu Glu Pro Ser Lys Gly Ser Tyr Met Asp Glu Glu
 180 185 190
 Trp Met Leu Glu Met Pro Thr Leu Leu Ala Asp Met Ala Glu Gly Met
 195 200 205

<210> 2246
 <211> 20
 <212> ADN
 5 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia artificial
 <220>
 <221> misc_feature
 10 <222> (3)..(18)
 <223> y = c o t; n = a, c g o t; h = a, c o t; m = a o c
 <400> 2246
 cayccnatht aymgnggngt 20
 <210> 2247
 15 <211> 21
 <212> ADN
 <213> secuencia artificial
 <220>
 <223> Secuencia artificial
 20 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (3)..(18)
 <223> y = c o t; n = a, c g o t; h = a, c o t; m = a o c; r = a o g
 <220>
 25 <221> misc_feature
 <222> (3)..(18)
 <223> y = c o t; n = a, c g o t; h = a, c o t; m = a o c; r = a o g
 <400> 2247
 30 ggnarnarca tncctcngc c 21

REIVINDICACIONES

1. Planta transgénica que sobreexpresa un polinucleótido recombinante, en la que dicha planta transgénica tiene una producción mejorada en comparación con una planta no transgénica o planta de tipo salvaje,
 5 en la que el polinucleótido codifica recombinante codifica un polipéptido que tiene por lo menos un 95% de identidad en la secuencia de aminoácidos sobre la longitud completa de SEQ ID No: 328, proporcionando dicho polipéptido una producción mejorada en comparación con una planta no transgénica que no sobreexpresa el polipéptido.
- 10 2. Planta transgénica según la reivindicación 1, en la que dicho polipéptido comprende un dominio conservado que tiene por lo menos un 80% de identidad en la secuencia con el dominio conservado de residuos 5-50 del polipéptido de SEQ ID NO:328.
- 15 3. Planta transgénica según la reivindicación 1, en la que dicho polipéptido comprende SEQ ID NO:328.
4. Planta transgénica según la reivindicación 1, 2 ó 3, en la que el polinucleótido recombinante comprende un promotor constitutivo, inducible o específico de tejido unido operativamente a dicha secuencia de polinucleótido.
- 20 5. Célula vegetal huésped cultivada que comprende un cassette de expresión que sobreexpresa un polinucleótido recombinante que codifica un polipéptido, en la que dicho polipéptido es tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1-3.
- 25 6. Planta transgénica según la reivindicación 1, 2 ó 3, en la que dicha planta comprende hipocótilos más largos y peciolo alargados en comparación con una planta no transgénica o una planta de tipo salvaje.
- 30 7. Planta transgénica según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la planta transgénica se selecciona del grupo que consiste en: soja, patata, algodón, colza oleaginosa, canola, girasol, alfalfa, trébol, plátano, mora, arándano, fresa, frambuesa, cantalupo, zanahoria, coliflor, café, pepino, berenjena, uvas, melón dulce, lechuga, mango, melón, cebolla, papaya, guisantes, pimientos, piña, calabaza, espinaca, calabacín, tabaco, tomate, tomatillo, sandía, frutas rosáceas, árboles frutales, crucíferas, cebada; trigo, maíz, maíz dulce, arroz, centeno; caña de azúcar, césped; mijo; sorgo; grosella; aguacate; cítricos, naranjas, limones, pomelo, mandarinas, alcachofa, cerezas; nuez, cacahuete; endibia; puerro; arrurruz, remolacha, mandioca, nabo, rábano, batata, boniato; judías, pino, álamo, eucalipto y menta.
- 35 8. Parte de planta de la planta transgénica según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, 6 y 7, que comprende un cassette de expresión que comprende el polinucleótido recombinante, en la que la parte de planta se selecciona entre fruto, hoja, raíz, tejido vegetal incluyendo tejido vascular o fundamental, o células vegetales.
- 40 9. Semilla de la planta transgénica según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, 6 y 7, en la que dicha semilla comprende un cassette de expresión que comprende el polinucleótido recombinante.
10. Proceso para producir una planta transgénica según las reivindicaciones anteriores, comprendiendo el proceso las etapas de:
 - 45 (a) producir un cassette de expresión que comprende un polinucleótido recombinante que codifica un polipéptido que tiene por lo menos un 95% de identidad en la secuencia de aminoácidos sobre la longitud completa de la SEQ ID NO:328;
 - (b) introducir el cassette de expresión en la planta; y
 - 50 (c) identificar y seleccionar una planta con producción mejorada en comparación con una planta no transgénica o una planta de tipo salvaje.
11. Proceso para producir una planta transgénica que tiene el rasgo alterado de la producción mejorada en comparación con una planta no transgénica o una planta de tipo salvaje, comprendiendo el proceso las etapas de:
 - 55 (a) proporcionar un vector de expresión que comprende:
 - (i) un polinucleótido recombinante que el polinucleótido recombinante codifica un polipéptido que tiene por lo menos un 95% de identidad en la secuencia de aminoácidos sobre la longitud completa de SEQ ID NO:328; y
 - (ii) por lo menos un elemento regulador que flanquea la secuencia de polinucleótido, siendo dicho por lo menos un elemento regulador efectivo en el control de la expresión de dicho polinucleótido recombinante en una planta diana;
 - 60 (b) introducir el vector de expresión en una célula vegetal, produciendo así una célula vegetal transgénica;
 - (c) crecer la célula vegetal transgénica en una planta transgénica y permitir que la planta transgénica sobreexpresa un polipéptido codificado por el polinucleótido recombinante, teniendo dicho polipéptido la propiedad de producción mejorada en una planta en comparación con una planta no transgénica que no sobreexpresa el polipéptido; y
 - 65 (d) identificar por lo menos una planta transgénica con dicha producción mejorada mediante la comparación de dicha planta transgénica con por lo menos una planta no transgénica que no sobreexpresa el polipéptido.

- 5 12. Proceso según la reivindicación 10 u 11, en el que dicho polipéptido comprende un dominio conservado que tiene por lo menos un 80% de identidad en la secuencia con el dominio conservado de residuos 5-50 del polipéptido de SEQ ID NO:328.
13. Proceso según la reivindicación 10 u 11, en el que dicho polipéptido comprende SEQ ID NO:328.
- 10 14. Utilización de un polinucleótido recombinante que el polinucleótido recombinante codifica un polipéptido que tiene por lo menos un 95% de identidad en la secuencia de aminoácidos sobre la longitud completa de SEQ ID NO:328, para producir una planta transgénica que tiene una producción mejorada en comparación con una planta no transgénica o una planta de tipo salvaje, proporcionando dicho polipéptido una producción mejorada en comparación con una planta no transgénica que no sobreexpresa el polipéptido.
- 15 15. Utilización según la reivindicación 14, en la que dicho polipéptido comprende un dominio conservado que tiene por lo menos un 80% de identidad en la secuencia con el dominio conservado de residuos 5-50 del polipéptido de SEQ ID NO:328.
- 20 16. Utilización según la reivindicación 15, en la que dicho polipéptido comprende SEQ ID NO:328.
17. Utilización según la reivindicación 14 or 15, en la que el polinucleótido comprende un promotor constitutivo, inducible o específico de tejido unido operativamente a dicha secuencia de polinucleótido.
- 25

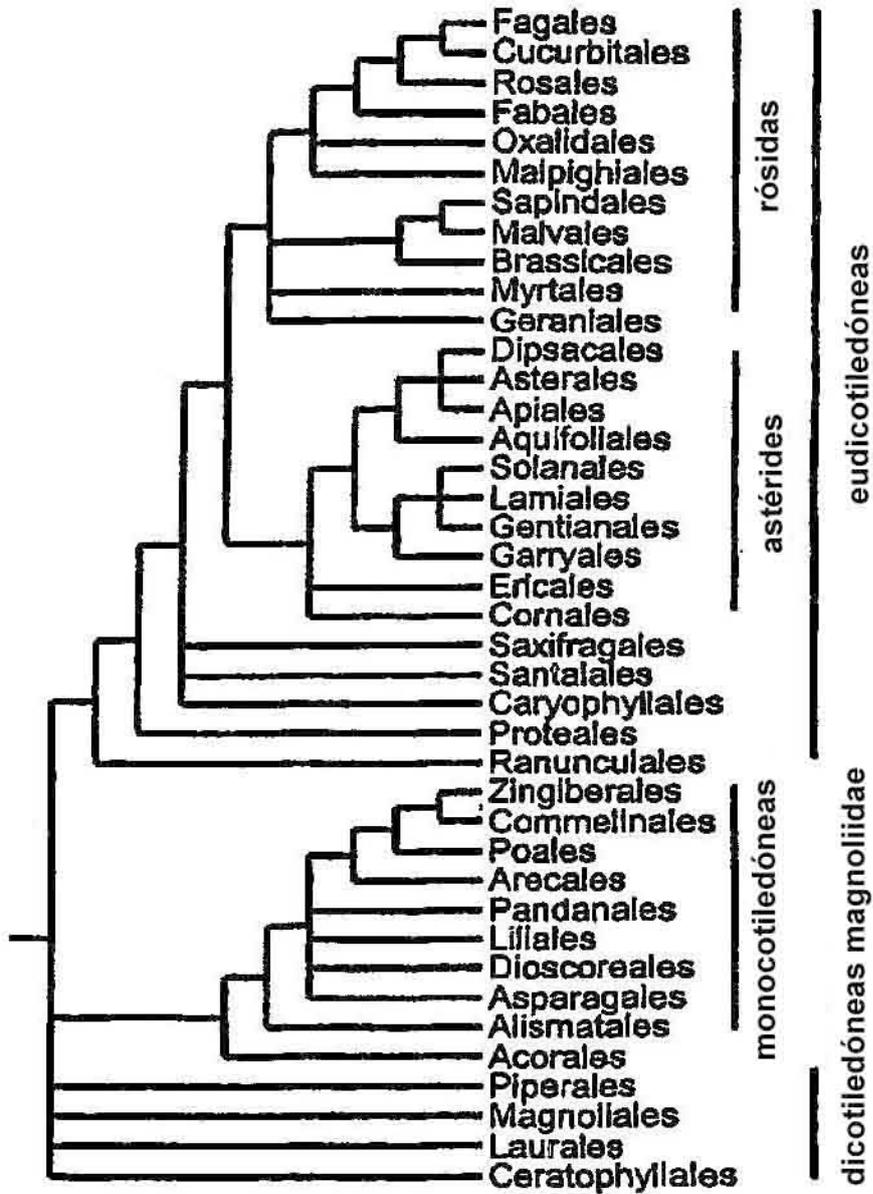


FIGURA 1

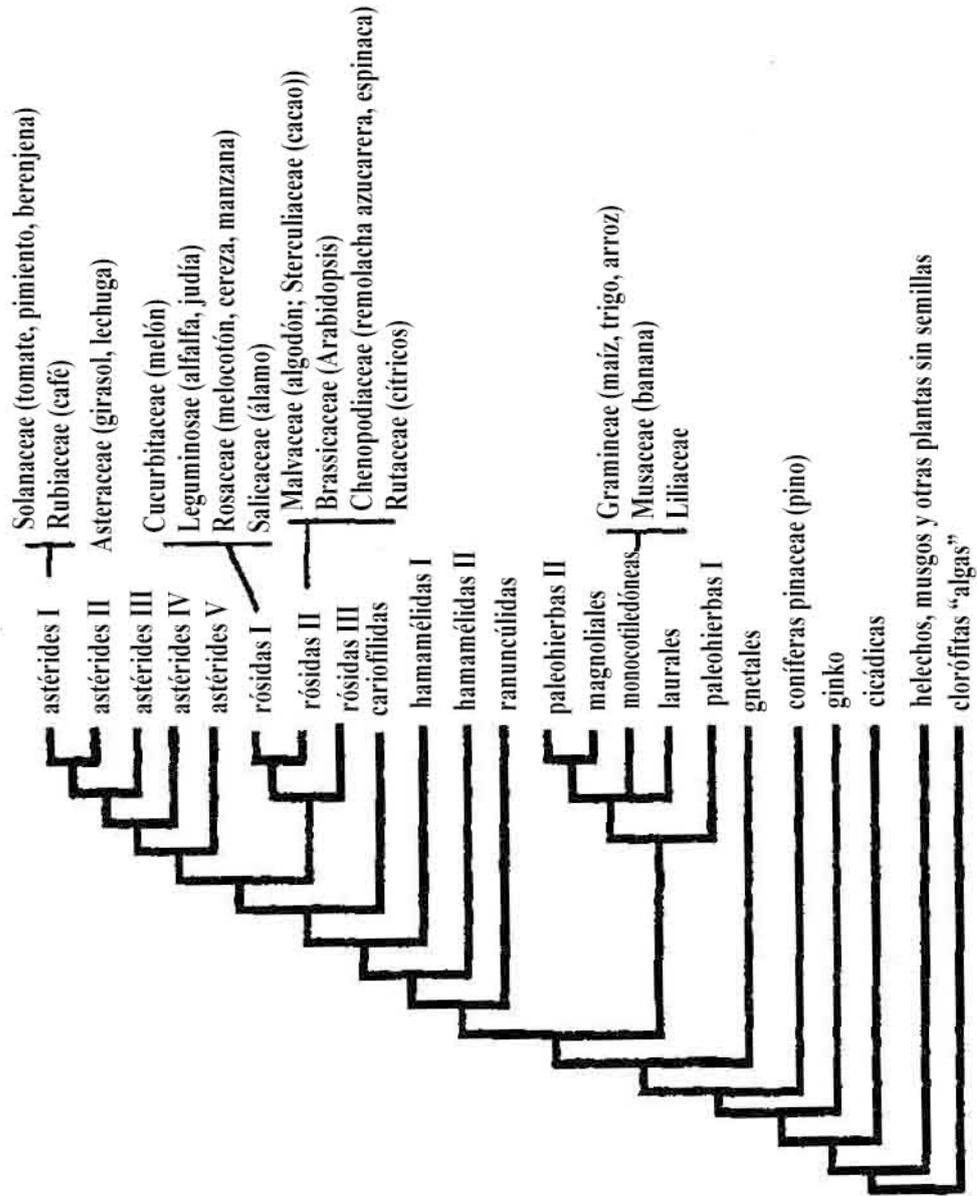


FIGURA 2